SUBSTANȚE BIOLOGIC - ACTIVE

SAVEL IFRIM

BIOLOGIC - ACTIVE SUBSTANCES

Besides the most important biologic - active substances (vitamins, hormones, enzymes) the paper also presents information about tissular hormones, interpherons, pheromone and organic compounds with biological activity in the vegetal world. Each of those seven chapters contains information about their biosynthesis, structure and also about their biological function. There is also pointed out vitamins and hormones importance for the field of live-stocks farms.

The paper is addressed to a large category of specialists (biochemists, physicians, chemists, technicians, live-stock experts) as well as to the students in the above mentioned fields.

PREFAȚĂ

Cercetarea științifică a materiei vii, a structurii chimice și a proprietăților ei atât de complexe, a dus la dezvăluiri dintre cele mai spectaculoase, care se înscriu în seria realizărilor de răsunet.

Chimia și mai ales cea organică a ajutat în mare măsură procesul de cunoaștere a materiei vii și ea rămâne un ajutor prețios în dezvoltarea biochimiei, ca ramură chimică limitrofă.

Progresele biochimiei ce s-au obținut de-a lungul secolului al XX-lea sunt legate și de cunoașterea multor substanțe biologic-active, caracteristice și necesare materiei vii, pe care aceasta este capabilă să și le producă, dacă nu în totalitate, cel puțin în mare parte.

Dintre substanțele pe care biochimia în colaborare cu fiziologia le-au identificat ca fiind în mod imperios necesare vieții fac parte *vitaminele*, *enzimele* și *hormonii*. Acestea sunt substanțe biologic-active devenite clasice în zilele noastre.

Observația și cercetarea științifică folosind metode moderne de studiu, conduse cu măiestrie de către biochimiști, fiziologi, medici și alți specialiști, au reușit să pună în evidență proprietatea materiei vii de a elabora și alte substanțe cu activitate biologică necesară organismului care le-a sintetizat. Dintre acestea fac parte *interferonii*, *feromonii*, *fitohormonii* și multe altele. Materiei vii îi sunt caracteristice încă multe alte proprietăți și diferite manifestări, neexplicate până în prezent.

Substanțele biologic-active sunt în număr impresionant de mare, dacă se ține seama și de cele obținute pe cale de sinteză. Tratarea lor în mod exhuastiv, într-un volum limitat, este practic imposibilă.

Lucrarea de față urmărește să facă o succintă prezentare a celor mai importante substanțe biologic-active, mai ales de natură endogenă, luându-le în considerare nu numai pe cele mai cunoscute (vitamine, enzime și hormoni) ce se găsesc tratate în lucrări similare, ci incluzând și aspecte din categoria hormonilor tisulari, a interferonilor și a compușilor organici cu activitate biologică în lumea vegetală.

Cele șapte capitole care alcătuiesc această carte sunt expuse fiecare într-un număr foarte diferit de pagini, aceasta având o motivație logică. În timp ce despre vitamine se vorbește de la începutul secolului nostru, despre interferoni se vorbește aproximativ de trei decenii și ceva mai susținut doar în ultimul deceniu.

În tratarea fiecărui capitol se urmărește, pe lângă unele date de ordin general, să se prezinte aspecte ce redau biosinteza produsului, structura sa și rolul biologic. În cazul

vitaminelor și mai puțin și al hormonilor se subliniază importanța acestora pentru sectoarele zootehnice. Unele sublinieri, privind acțiunea biologică, se fac acolo unde este cazul pentru fiecare compus separat, dar și în ansamblu, ca pentru prostaglandine, interferoni, feromoni.

În capitolul despre enzime, pe lângă aspectele care privesc structura, nomenclatura, clasificarea și proprietățile generale ale acestora, se tratează cinetica reacțiilor enzimatice, mecanismele acestui gen de cataliză, iar într-un subcapitol separat se prezintă date despre enzimele imobilizate.

Cartea se adresează unei game largi de specialiști, de exemplu: biochimiști, medici, biologi, ingineri chimiști, ingineri zootehniști, ingineri agronomi, celor care lucrează în sectoarele biotehnologice, unor categorii de profesori din învățământul preuniversitar și studenților care se pregătesc în domeniile de specialitate, ca cele amintite anterior. Informațiile prezentate în această lucrare sunt expuse cu multă claritate, cartea fiind dominată de un profund caracter didactic, încât poate fi de folos celor care doresc să se inițieze cu noțiuni din domeniul substanțelor biologic-active.

Din bibliografia bogată existentă, autorul s-a străduit să prezinte esențialul, intenție care, probabil, nu a reușit pe deplin. Ținând cont că domeniul din care face parte lucrarea este susceptibil de aspecte inedite, peste un interval de timp nu prea mare, va deveni necesară completarea ei cu noi date.

Specialiștilor care, cu bunăvoință, vor semnala unele direcții de dezvoltare a prezentelor capitole și vor sugera noi aspecte care să ducă la apariția unei lucrări mai complete, autorul le prezintă în mod anticipat mulțumirile sale cele mai sincere.

Deosebite aprecieri sunt adresate domnului inginer *Veniamin Munteanu*, managerul Societății de Antibiotice Iași, care a înțeles utilitatea acestei lucrări, a sprijinit publicarea ei și căruia autorul îi este recunoscător și îi prezintă cele mai alese mulțumiri.

Autorul

CUPRINS

1 VITAMINE

1.1. Aspecte generale

1.1.1. Definiție. Istoric

Vitaminele sunt substanțe organice cu moleculă relativ mică, de origine exogenă, care în cantități foarte mici reglează și stimulează transformările biochimice normale, ce se petrec în celula vie. Organismele animale nu se pot dezvolta și nici nu pot supraviețui în absența vitaminelor din alimentație; lipsa lor determină apariția unor tulburări caracteristice.

Se observase de multă vreme că între apariția unor maladii și alimentație există o strânsă interdependență. Încă din antichitate s-a constatat că unele boli ca, de exemplu, pelagra, beri-beri, scorbutul și altele, apăreau datorită unei alimentații necorespunzătoare. De asemenea, s-a constatat că rahitismul se vindecă prin consumarea "unturii de pește", extrasă din ficatul unor pești marini, iar scorbutul se previne prin consumarea sucului de lămâie. Cercetătorul francez Nicolas Venette (1671) considera că există o strânsă corespondență între apariția scorbutului și lipsa vegetalelor proaspete din alimentație.

Studiind cauzele maladiei beri-beri, medicul japonez Takaki a observat (1882) că aceasta apare la marinarii care se hrănesc cu orez decorticat. În anul 1889, medicul olandez Christiaan Eijkman (1858-1930) a observat că păsările ce consumă orez decorticat se îmbolnăvesc de polinevrită, o boală foarte asemănătoare cu beri-beri care apare la om. Dacă însă păsările bolnave se hrăneau cu tărâțe de orez, se vindecau repede, ceea ce i-a sugerat lui Eijkman să presupună că în alimentația normală există unele substanțe care în realitate erau vitamine.

În anul 1912, Frederik Gowland Hopkins (1861-1947) a dovedit că pentru dezvoltarea normală a organismelor animale, pe lângă substanțele plastico-energetice (proteine, glucide și lipide), sunt necesare și alte substanțe, în cantități foarte mici și cu proprietăți particulare, existente în anumite alimente naturale, substanțe numite "factori alimentari accesorii". O concluzie asemănătoare a dedus pe cale experimentală în anul 1880 și savantul rus Nicolai Ivanovici Lunin (1854-1937).

Multe alte observații și cercetări experimentale, ca cele ale medicului japonez Inouye asupra xeroftalmiei (1896), ale lui Hobs și Frölich asupra scorbutului (1907), ale lui E.V. McCollum, Davis, Mendel, Osborne (1913) asupra "factorului de

creștere liposolubil A", au dus la concluzia că în categoria "vitaminelor" există un număr mai mare de substanțe, care au fost identificate ulterior.

Termenul de *vitamină* a fost indrodus în știință de către biochimistul polonez Casimir Funk (1884-1967) care, în anul 1911, a reușit să separe din coaja de orez un concentrat activ, ce vindecă boala beri-beri. S-a constatat că în componența acestui concentrat există o substanță ce conține o grupare aminică, motiv pentru care Funk a denumit această substanță *amina vieții* (vita-vitae = viață). Deși cele mai multe vitamine nu conțin gruparea aminică în structura lor chimică, totuși denumirea s-a generalizat și s-a păstrat.

Vitaminele sunt sintetizate de către organismele vegetale și microorganisme. Organismul omenesc este incapabil de a-și sintetiza vitaminele necesare; de asemenea, multe organisme animale își procură necesarul de vitamine din exterior. Se cunosc totuși organisme animale care au proprietatea de a sintetiza unele vitamine, cum sunt: acidul ascorbic, vitamina PP, vitamina D_3.

Numărul substanțelor izolate și caracterizate ca având proprietăți vitaminice a crescut datorită multiplelor cercetări intreprinse în acest domeniu. Astăzi, aceste substanțe naturale se obțin pe cale de sinteză și se fabrică industrial.

1.1.2. Vitaminele în alimentație

Sursa de vitamine pentru om și animale o constituie alimentele naturale; acestea conțin uneori substanțe organice care, pătrunse în organism, suferă unele modificări chimice și se transformă din provitamine în vitamine active.

Deoarece organismul omenesc nu poate sintetiza vitamine, lipsa lor din hrana zilnică provoacă tulburări numite avitaminoze. Lipsa concomitentă a mai multor vitamine din alimentație determină apariția de poliavitaminoze. Un aport insuficient de vitamine in organism determină apariția hipovitaminozelor, respectiv a polihipovitaminozelor. Avitaminozele și hipovitaminozele dispar prin administrare de vitamine în cantități suficiente.

Hipovitaminoze și avitaminoze pot să apară și în cazul în care există o cantitate suficientă de vitamine în hrană, însă unele afecțiuni ale aparatului gastrointestinal împiedică absorția lor. De exemplu, vitaminele liposolubile nu sunt absorbite la nivelul intestinului decât numai în prezența unei cantități suficiente de grăsime și de bilă în sucul intestinal. Hipovitaminoze pot să apară și ca o consecință a unei depuneri insuficiente de vitamine sub formă de rezerve în unele organe, ca de exemplu în ficat.

Aportul exagerat de vitamine duce la tulburări denumite hipervitaminoze; acestea apar mai ales în cazul excesului de vitamine A sau D și sunt însoțite de manifestări chimice specifice.

În perioada de gestație și lactație necesarul de vitamine pentru organismele animale este mai ridicat, deoarece au loc procese fiziologice specifice, când consumul acestor produși biologici activi crește. De asemenea, în medii febrile infecțioase este necesar un aport sporit de vitamine în organism.

Tabelul 1.1 **Prezența unor vitamine în câteva alimente (Datele reprezintă valori medii la 100 g produs alimentar)**

Alimentul	A (U.I.)	D (U.I.)	Caroten (mg)	E (mg)	K (mg)	B_1 (mg)	B_2 (mg)	B_6 (mg)	PP (mg)	Acid folic (mg)	C (mg)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lapte de vacă interg.	150	3	0,035	0,10	0,03	0,045	0,200	0,100	0,200	0,005	2,0
Smântână	1000	20	0,300	1,20		0,040	0,140				
Unt	3500	50	0,700	2,50		0,050	0,400	0,500	1,500		1,0
Brânzeturi	1200	30	0,130	0,60							
Ou găină	2000	100	0,700	1,20	0,20	0,120	0,360	0,400	0,200		
Carne de vită	30	10	0,006	0,30	0,20	0,160	0,250	0,600	4,000		10,0
Carne de porc	60	10	0,004			0,900	0,200	0,800	6,000		10,0
Carne de pasăre	60		0,015		0,30	0,150	0,160	0,500	8,000		
Ficat	25000	40	2,500		0,5	0,370	3,500	0,600	17,000	0,100	
Salam	80					0,350	0,200		5,000		
Pește slab	200	200	0,010			0,160	0,150	0,300	4,000		1,0
Pește semigras	600					0,150	0,160	0,200	3,000		1,0
Orez glasat			0,030			0,040	0,030	0,200	1,000		
Făină de grâu			0,120	10,00		0,300	0,120	0,400	3,000	1,200	0
Făină de porumb			0,400			0,350	0,200	0,100	1,000		
Pâine integrală				8,00	0,28	0,250	0,150	0,250	2,000	0,008	
Pâine albă				4,00		0,100	0,050	0,150	1,000	0,005	
Fasole uscată			0,100			0,550	0,250	0,350	2,500	0,700	
Mazăre uscată			0,150	5,00	0,28	0,700	0,300	0,250	3,000	0,300	
Cartofi			0,030		0,08	0,120	0,100	0,250	1,500	0,500	14,0
Fasole verde			0,500			0,150	0,200	0,150	0,500		20,0
Morcovi			6,000	3,00	0,10	0,080	0,070	0,200	1,000	0,060	7,0
Salată verde			2,000	0,60	0,08	0,080	0,120	0,200	0,200	0,100	50,0
Spanac			7,000	6,00	5,00	0,150	0,220	0,800	0,800	0,280	50,0
Tomate (roșii)			2,500	0,70	0,12	0,070	0,045	0,200	0,300	0,130	25,0
Varză albă			0,080		2,00	0,100	0,080	0,100	0,500		50,0
Afine			0,900					0,090			15,0
Cireșe			0,360			0,060	0,060	0,050	0,100		10,0
Coacăze negre			0,250			0,050	0,060		0,300		200,0
Lămâi			0,250			0,050	0,030		0,300		50,0
Măceșe (pulpă)			5,000			0,030					1000,0
Mere			0,050			0,045	0,030	0,250	1,000		5,0
Pepene galben						0,030	0,020	0,040			15,0
Pepene roșu			0,400			0,030		0,040			5,0
Piersici			0,700			0,060	0,070		0,900		9,0

Tabelul 1.1 (continuare)

Portocale			0,250			0,060	0,040	0,100			50,0
Prune			0,450			0,120	0,600	0,100	0,300		5,0
Struguri			0,010			0,050	0,020	0,120	0,400		3,0
Nuci	100		0,500			0,550	0,400	0,250			5,0
Marmeladă			0,120			0,050					9,0

Produsele naturale supuse proceselor de pregătire a hranei (spălare, fierbere, coacere etc.) pierd o parte din vitamine, încât devine uneori necesară revitaminizarea alimentelor finale.

Folosirea antibioticelor pe cale orală trebuie secondată și de utilizarea vitaminelor care alcătuiesc complexul B, deoarece unele antibiotice acționează ca antivitamine sau distrug flora intestinală care favorizează biosinteza acestor vitamine.

Necesarul zilnic de vitamine în alimentația omului și animalelor variază funcție de mai mulți factori ca, de exemplu: starea fiziologică și sanitară, vârstă, activitatea prestată, anotimp, natura hranei etc.

1.1.3. Clasificare și nomenclatură

Între structurile chimice ale vitaminelor nu există suficiente asemănări, astfel încât structura chimică să constituie un criteriu al clasificării lor. Singurul criteriu după care se clasifică vitaminele, propus în 1915 de Osborne și Mendel, este comportarea lor față de apă, grăsimi și solvenți lipofili. După acest criteriu se disting două grupe mari: *vitamine liposolubile* și *vitamine hidrosolubile*.

Vitaminele liposolubile sunt solubile în grăsimi și în unii solvenți lipofili, dar sunt insolubile în apă. Din această categorie fac parte vitaminele A,D,K,E și F. Denumirile uzuale ale vitaminelor reflectă proprietățile lor biologice, astfel: vitamina A este antixeroftalmică, vitamina D este antirahitică, vitamina K este anhihemoragică, iar vitamina E este vitamina antisterilității.

Faptul că aceste vitamine sunt solubile în grăsimi și în solvenți lipofili se explică prin prezența în molecula lor a unor resturi hidrofobe, care pot interacționa cu moleculele lipofile prin forțe Van der Waals. Polaritatea lor mică, cât și prezența unor grupări hidrofile, ca cele hidroxilice, constituie factori total insuficienți care să interacționeze cu moleculele de apă și să ducă la solvatarea unei molecule cu dimensiuni relativ mari.

Este bine stabilit faptul că organismele animalelor superioare au nevoie de aceste vitamine; ele trebuie să pătrundă în organism zilnic o dată cu hrana. Nu este pe deplin lămurit rolul vitaminelor liposolubile pentru microorganisme sau pentru plante.

Din categoria vitaminelor hidrosolubile fac parte toate vitaminele ce alcătuiesc complexul B, vitamina C și vitamina P sau C_2. Și în acest caz, denumirile uzuale corespund proprietăților biologice, provenienței sau reflectă ceva din structura lor chimică. Astfel, vitamina B_1 numită tiamină este cunoscută și sub numele de vitamina antiberi-beri sau antinevritică, vitamina B_2 este numită riboflavină sau lactoflavină,

vitamina PP se mai numeşte şi niacină sau vitamina antipelagroasă; acidul pantotenic este cunoscut sub numele de vitamina B_5, vitamina B_6 se mai numeşte şi adermină, vitamina H sau biotină, vitamina B_{12} se numeşte şi cobalamină. Vitamina C sau acidul ascorbic se mai numeşte vitamină ascorbică, iar vitamina C_2 se numeşte vitamina permeabilităţii. În afară de aceşti reprezentanţi, se mai cunosc câteva substanţe organice hidrosolubile, care îndeplinesc rol de factor de creştere pentru unele organisme, fiind necesare uneori în concentraţii mai mari decât vitaminele obişnuite. Se cer menţionaţi în această categorie: inozita, colina, acidul para-aminobenzoic, acidul folic şi carnitina.

Solubilitatea în apă a acestor vitamine se explică prin existenţa în molecula lor a mai multor grupări polare, hidrofile, sau a stării ionice (cazul vitaminei B_1), care favorizează procesul de hidratare (solvatare). Acest proces se realizează prin interacţiuni ion-dipol, dipol-dipol sau stabilirea de punţi de hidrogen între moleculele de apă puternic polare şi moleculele de vitamină.

Realizări de importanţă majoră s-au obţinut în deceniile 4 şi 5 ale secolului nostru, când au fost izolate unele vitamine, cărora li s-a determinat structura chimică şi s-a stabilit legătura dintre vitamine şi enzime, punându-se în evidenţă rolul unor vitamine în componenţa enzimelor. În această direcţie, se poate exemplifica faptul că vitamina B_1 este componentă a cocarboxilazei, vitamina B_2 este coenzima flavinenzimelor, vitamina B_6 este coenzima transaminazelor, vitamina PP este o componentă a codehidrazelor etc. S-a pus astfel în evidenţă importanţa biologică deosebită a unor vitamine şi s-a putut explica şi înţelege mecanismul chimic prin care enzimele, în cantităţi foarte mici, catalizează reacţiile biochimice.

1.1.4. Antivitamine

Antivitaminele sunt substanţe organice care au proprietatea de a determina apariţia avitaminozelor; deci antivitaminele manifestă astfel de efecte biologice încât reduc sau inhibă activitatea enzimelor. Acţiunea biologică a antivitaminelor este neutralizată prin administrarea de vitamine.

Antivitaminele sunt substanţe naturale sau sintetice, având proprietatea ca fiecare reprezentant să determine apariţia unei singure avitaminoze, dar, pentru o aceeaşi acţiune biologică antivitaminică, pot exista mai multe substanţe ca, de exemplu: acidul salicilic, dicumarolul, diftiocolul şi altele care manifestă proprietăţi opuse vitaminei K.

Antivitaminele se pot grupa în două categorii:

a) antivitamine cu structură chimică apropiată de cea a vitaminelor a căror activitate o inhibă; sunt deci antivitamine ce se pot denumi drept *analogi structurali* ai vitaminelor antagoniste;

b) antivitamine ce nu prezintă asemănare cu structura chimică a vitaminelor a căror activitate o inhibă; acestea se pot denumi *heterologi structurali* ai vitaminelor antagoniste.

Datorită analogiei structurale, antivitaminele din prima categorie pot înlocui vitaminele în procesele biologice la care acestea participă în mod normal, neavând însă acţiune favorabilă. De exemplu, dacă o astfel de antivitamină participă în alcătuirea unei

enzime în calitate de "coenzimă", rezultă în realitate o enzimă falsă (pseudoenzimă), care nu poate manifesta nici o acțiune bilogică. De asemenea, modificările structurale ale moleculelor de vitamine le suprimă acestora activitatea caracteristică; astfel, prin esterificarea grupei hidroxilice din poziția 3, vitaminele D își pierd activitatea antirahitică. Piridoxina, prin esterificarea cu acid fosforic sau prin îndepărtarea grupării fenolice când rezultă dezoxipiridoxina, duce la apariția antagoniștilor săi (antivitamine B_6).

Antivitaminele din cea de a doua categorie își manifestă acțiunea antivitaminică prin diferite mecanisme chimice ce se pot desfășura în mod diferit, dar care au același efect: modificarea sau inhibarea acțiunii biologice specifice. Astfel, enzima numită tiaminază, ce se găsește în peștele crud, are proprietatea de a scinda hidrolitic vitamina B_1, încât aceasta își pierde activitatea; tiaminaza este deci antivitamina B_1. Un alt exemplu bine cunoscut este acela al inactivării biotinei prin combinarea ei cu o glucoproteidă din albușul de ou crud, numită avidină, când rezultă complexul biotin-avidină; avidina este deci o antibiotină.

1.1.5. Importanța vitaminelor în zootehnie

Carența vitaminelor din hrana animalelor se manifestă printr-o serie de maladii și tulburări fiziologice, de multe ori asemănătoare celor care apar în organismul omenesc, tulburări observate de multă vreme.

Datorită cercetărilor întreprinse de specialiști, s-a putut stabili cu precizie care este rolul fiecărei vitamine în creșterea, sănătatea, producția și reproducția animalelor. În acest sens cercetările continuă, ele fiind determinate de dezvoltarea societății, care solicită creșterea animalelor pe scară largă, în colectivități mari, unde apar aspecte cu totul deosebite și de multe ori dificile.

O primă manifestare a lipsei de vitamine din hrana animalelor o constituie slăbirea lor, reducerea poftei de mâncare și în consecință scăderea în greutate. La tineret, perturbările determinate de avitaminoze se exteriorizează prin încetarea creșterii, slăbirea generală, malformații, mortalitate ridicată.

În afară de tulburări digestive sau ale țesuturilor osoase, în lipsa vitaminelor din hrana animalelor apar tulburări în reproducție, în lactație, anemii, scăderea rezistenței organismelor la infecții.

Deoarece hrana animalelor este puțin variată: masă verde, nutrețuri uscate, boabe măcinate, este necesar ca această hrană să fie controlată și completată prin adaosuri de vitamine din exterior, încât creșterea și dezvoltatea tineretului să nu fie perturbată, iar producția de carne, lapte, ouă, lână etc. să fie corespunzătoare.

Trebuie subliniat faptul că în sectorul animalier nu intervine avitaminoză C_1, deoarece toate animalele pentru producție de carne, ouă, lapte, lână, blănuri etc. sunt capabile să-și sintetizeze singure acidul ascorbic. De asemenea, rumegătoarele își sintetizează cea mai mare parte din vitaminele B și vitaminele K. Aceste vitamine însă nu sunt sintetizate în organismul cabalinelor, încât pentru acestea alimentația trebuie să le asigure necesarul zilnic.

Trebuie subliniat că în cazul folosirii unor medicamente, ca de pildă sulfamidele, sau a existenței în hrana animalelor a unor factori antivitaminici, pot să apară și avitaminoze B. La porci, păsări și la animale pentru blănuri s-au ivit carențe de vitamină B_1, acid nicotinic sau riboflavină datorită unei alimentații necorespunzătoare sau tulburării absorbției la nivelul tubului digestiv, fenomen ce poate să apară și în cazul diareilor.

În cazul vitaminelor liposolubile, mai ales A și D, avitaminozele apar frecvent, deoarece hrana nu conține suficiente provitamine. Se poate considera că hrana verde conține suficient caroten, care să asigure necesarul de vitamină A.

În procesele de reproducere, atât femelele cât și masculii au nevoie de cantități sporite de vitamine (A, D, E, C și B), căci acestea intervin în activitatea glandelor endocrine, în biosinteza unor hormoni, produși biologici activi, implicați profund în aceste procese complexe.

Se cere ca în colectivitățile de creștere a animalelor, pe lângă o curățenie deosebită, să existe o grijă permanentă în alcătuirea rațiilor alimentare, care să fie supuse unui control calificat.

Tabelul 1.2. **Necesarul în diferite vitamine, raportat la 1 kg corp, pentru diferite animale**

Denumirea vitaminei	Animale						
	Viței	Scroafe gestante	Scroafe lactație	Purcei	Porci sub 50 kg	Miei	Pui de găină
Vitamina B_1, µg	25	90	85	65	80	40	2 000
Vitamina B_2, µg	20	95	95	120	95	30	3 100
Vitamina B_6, µg	60	75	75	95	85	50	3 400
Vitamina B_{12}, µg	1,4	0,6	0,6	1	0,75		25
Ac.pantotenic, µg	80	145	210	350	295	120	11 500
Vitamina PP, µg	195	205	240	220	250	385	19 000
Vitamina A, U.I.	215	175	310	155	120	225	3 800
Vitamina D, U.I.	9	4	6	11	10	8	300
Vitamina E, mg	0,5	0,7	0,7	0,6	0,6	0,2	21
Colina, mg	45	50	50	45	50		1 350

Dezvoltarea zootehniei implică asigurarea necesarului de vitamine pentru diverse specii de animale prin adaosuri la furaje a unor vitamine sau provitamine, utilizându-se ca surse unele subproduse provenite din industria alimentară și din cea de antibiotice, precum și vitamine obținute pe cale microbiologică.

1.2. Vitamine liposolubile

Proprietatea comună a acestor vitamine este insolubitatea lor în apă, datorită restului molecular mare, hidrofob, din structura lor chimică (vezi subcap. 1.1.3.).

Se mai poate considera că în cazul vitaminelor A, K și E, există structuri izoprenice, fie pentru întreaga moleculă (cazul vitaminei A unde se găsesc 4 resturi de izopren încatenat), fie numai în catena laterală (cazul vitaminelor E unde se pot considera că există 4 resturi izoprenice încatenate și cazul vitaminelor K unde există 4 sau 6 resturi izoprenice în catenele laterale).

Fiecare vitamină din această grupă manifestă proprietăți biologice specifice, de mare importanță, atât pentru organismul omenesc cât și pentru cel animal. Ele nu îndeplinesc funcții de coenzimă.

1.2.1. Vitamina A

Generalități. Încă de la începutul secolului nostru s-a constatat că animalele hrănite cu alimente extrase în prealabil cu eter se îmbolnăvesc; practic aceste animale scad în greutate, nu mai cresc, li se usucă corneea ochilor, apar conjunctivite și este tulburat procesul vederii. Adăugând acestei hrane degresate gălbenuș de ou, unt și în mod deosebit untură de pește, animalele se vindecau. S-a tras concluzia că hrana naturală conține o anumită substanță, solubilă în grăsimi, căreia i s-a spus "factor de creștere". Luând în considerare noi observații și cercetări, în anul 1920, Drummond a propus pentru acest factor liposolubil denumirea de vitamină A.

Cercetări experimentale efectuate în cel de al treilea deceniu al secolului al XX-lea au dus la concluzia că în unele vegetale, mai ales în morcov, există substanțe cu acțiune vitaminică puternică, dar care aveau alte proprietăți decât factorul de creștere, liposolubil, existent în hrana de natură animală. S-a putut stabili că în vegetale există compuși chimici ce sunt precursori ai vitaminei A, care, după ce pătrund în organismul animal, se transformă în substanțe cu proprietăți de vitamină A. Substanțele care au proprietatea de a se transforma în organismele animale în vitamine active au fost denumite provitamine.

S-a pus în evidență faptul că și alte plante verzi ca, de pildă, varza, spanacul, lucerna, sau boabele de porumb conțin substanțe care au rol de provitamine A.

Încă din anul 1831, Wackenroder izolase din morcov o substanță cristalină, de culoare galbenă, cunoscută sub numele de carotină (*Dacus carota* – morcov). Carotina s-a dovedit a fi prezentă nu numai în morcov, ci și în alte plante, ca cele enumerate anterior.

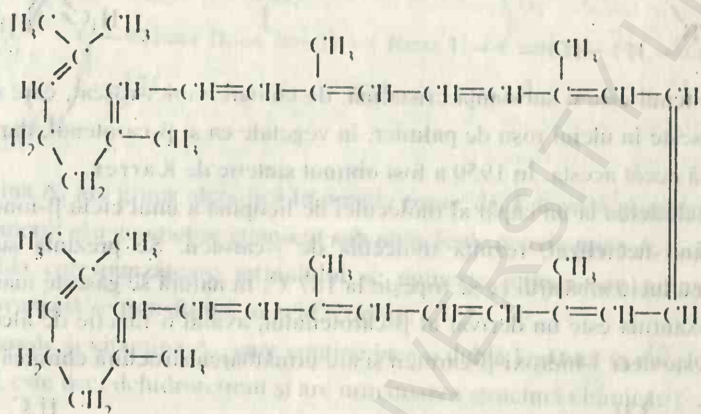
În anii 1928-1929, s-a stabilit de către H.V. Euler și Paul Karrer că există o anumită înrudire între vitamina A și caroteni, că aceștia au în mod cert activitate vitaminică, permițându-se concluzia conform căreia carotenii sunt provitamine A.

Provitamine A. Carotinoidele reprezintă un grup de substanțe organice care apar în regnul vegetal și sunt colorate în galben, portocaliu sau roșu, datorită sistemului cromoforic determinat de un număr mare de duble legături conjugate. Dintre aceste substanțe fac parte hidrocarburi (licopina, carotina), alcooli (zeaxantina, criptoxantina),

cetone (astacina, astaxantina) și altele. Toate carotinoidele au structură chimică poliizoprenică.

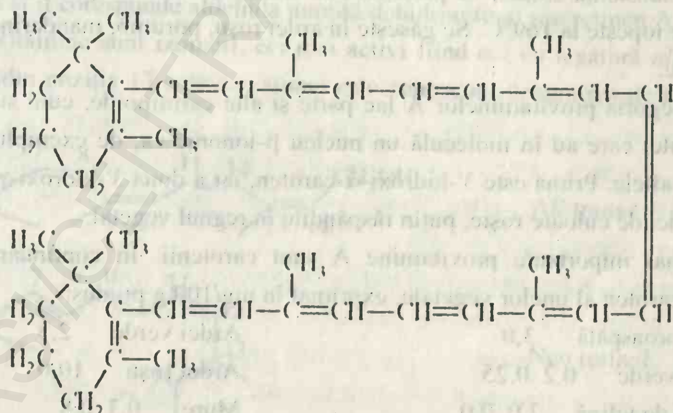
Dintre carotinoide, α-, β- și γ- carotenii precum și criptoxantina sunt provitamine A.

Licopina este o hidrocarbură nesaturată, alcătuită din 8 resturi de izopren, cu formula moleculară $C_{40}H_{56}$. În structura ei chimică, așa cum se vede în continuare, există 13 duble legături, dintre care 11 în sistem conjugat:



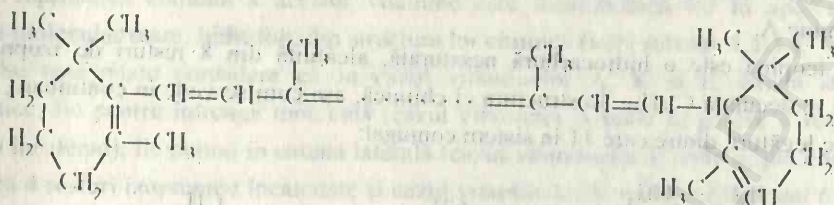
Licopina este cirstalină, de culoare roșie și se topește le 175°C. Culoarea roșie a fructelor de toamnă se datorește licopinei.

Dacă cele două resturi marginale de izopren închid cicluri de β-iononă, rezultă molecula de β-caroten (sau carotină), un izomer al licopinei, a cărei structură chimică a fost stabilită de P. Karrer în 1931:



β-Carotenul este o substanță cristalină, polimorfă, de culoare violet închis sau roșu închis, care se topește la 183°C. Este foarte răspândit în natură în plante verzi, fiind un însoțitor al clorofilei. Se găsește în țesuturi animale, în ciuperci și bacterii. În industrie se extrage din morcovi și din lucernă. Se poate obține și sintetic.

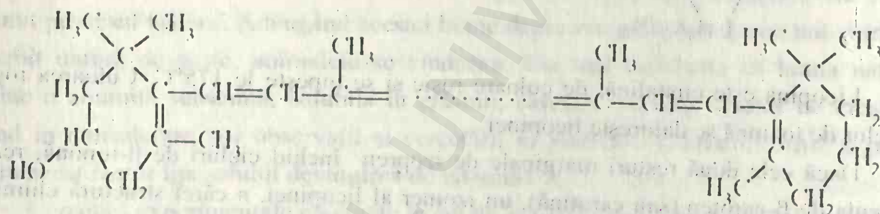
Dacă molecula de licopină, prin ciclizare, determină apariția unui ciclu de β-iononă la un capăt, iar la celălalt capăt α-iononă, rezultă molecula de α-caroten, cu următoarea structură chimică, stabilită tot de Karrer în 1931:



α-Carotenul este o substanță cristalină, de culoare violet-roșcat, care se topește la 187°C. Se găsește în uleiul roșu de palmier, în vegetale ca și β-carotenul, dar în proporție mult mai mică decât acesta. În 1950 a fost obținut sintetic de Karrer.

Prin închiderea la un capăt al moleculei de licopină a unui ciclu β-iononic, celălalt capăt rămânând neciclizat, rezultă molecula de γ-caroten. Se prezintă sub formă de cristale roșii cu luciu albăstrui ce se topește la 187°C. În natură se găsește mai rar.

Criptoxantina este un derivat al β-carotenului, având o funcție de alcool secundar în poziția 3; este deci 3-hidroxi-β-caroten și are următoarea structură chimică:



Este o substanță solidă, se prezintă sub formă de cristale prismatice, de culoare roșie-violet; se topește la 169°C. Se găsește în ardei roșu, porumb, mandarine, portocale și în alte vegetale.

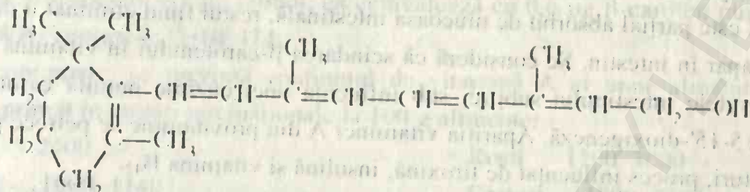
Din categoria provitaminelor A fac parte și alte carotinoide, cum sunt xantofilele monohidroxilate, care au în moleculă un nucleu β-iononic ca, de exemplu: fizoxantina, rubixantina și altele. Prima este 3'-hidroxi-α-caroten, iar a doua 3'-hidroxi-γ-caroten. Sunt substanțe solide, de culoare roșie, puțin răspândite în regnul vegetal.

Cele mai importante provitamine A sunt carotenii. În continuare se prezintă conținutul în caroten al unelor vegetale, exprimat în mg/100 g produs:

Varză proaspătă	3,0	Ardei verde	2,5
Salată verde	0,2 0,25	Ardei roșu	10,0
Frunză de țelină	7,0 9,0	Mure	0,3 0,8
Sparanghel	1,0 20	Spanac proaspăt	5,0 6,0
Tomate	1,5 2,00	Caise proaspete	2,0 2,2
Morcovi	6,0 24,0	Lămâi	0,4
Soia	0,45 1,0	Mere	0,3 0,4

Structuri chimice ale vitaminelor A. Provitaminele A pătrund o dată cu hrana în organismele animale, unde se transformă în vitamina A.

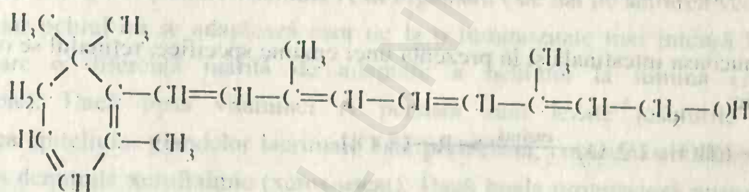
Se cunosc mai multe vitamine A, cu structuri chimice proprii. Astfel, vitamina A_1, numită şi retinol, este un alcool primar, cu următoarea structură chimică: 1,1,5 trimetil-6-(15 hidroxi - 9,1- dimetil, 7,9,11,13 t nonatetraen)- 5 -ciclohexena:



Vitamina A_1 are grupa alcoolică în poziţia *trans*; dacă această grupă este în poziţia *cis*, apare izomerul său geometric cunoscut sub numele de neovitamina A.

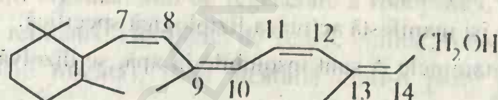
Aldehida corespunzătoare retinolului se numeşte retinen sau retinal, care prin oxidare mai avansată se transformă în acid retinoic.

Se cunoaşte şi vitamina A_2, care conţine încă o dublă legătură în nucleul β-iononic, în poziţia 3-4; este deci dehidroretinol şi are următoarea structură chimică:

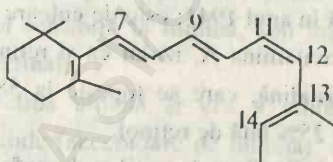


Şi acesteia îi corespunde aldehida numită dehidroretinal sau retinen A_2.

Aceste vitamine sunt izomeri, cei mai activi fiind cei cu legătură *all trans*. Dacă dubla legătură din poziţia 13 este *cis*, atunci este cunoscută denumirea de neoretinol (al, acid retinoric)



All trans



Neo retinol

Aceste structuri chimice se pot explica cu uşurinţă; admiţând că molecula de β-caroten ar suferi, în mod formal, o hidroliză la legătura dublă din mijlocul moleculei, ar rezulta două molecule de retinol. Prin simplă dehidrogenare a grupării alcoolice primare, acesta ar trece în aldehidă; deci ar apărea retinalul, iar prin oxidarea grupei aldehidice s-ar forma acidul retinoic.

În organism aceste reacții se petrec în prezența enzimelor caracteristice și sunt mai complexe. Cercetările au pus în evidență faptul că, ajunse în intestin, provitaminele A trec parțial prin pereții intestinali și se depozitează în ficat, unde se transformă pe cale biochimică în vitamine.

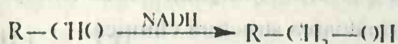
Transportul vitaminei A în organism. S-a demonstrat fără ambiguitate că β-carotenul este parțial absorbit de mucoasa intestinală, restul fiind eliminat o dată cu alte deșeuri ce apar în intestin. Se consideră că scindarea β-carotenului în vitamină A are loc chiar în peretele intestinului subțire, sub influența unei enzime numită carotenază sau β-caroten-15-15'-dioxigeneză. Apariția vitaminei A din provitamine se petrece probabil și în alte țesuturi, proces influențat de tiroxină, insulină și vitamina B_{12}.

β-Carotenul, sub acțiunea β-caroten-15-15'-dioxigenazei și a oxigenului molecular, este oxidat la dubla legătură din mijlocul moleculei, rezultând două molecule de retinal:



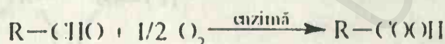
$$R{-}CH{=}CH{-}R + O_2 \xrightarrow{\text{carotenază}} 2R{-}CHO$$

Retinalul se reduce la retinol în prezența unei aldehid-reductaze, care are drept coenzimă NADH:



$$R{-}CHO \xrightarrow{\text{NADH}} R{-}CH_2{-}OH$$

În mucoasa intestinală și în prezența unei enzime specifice, retinalul se oxidează la acid retinoic:



$$R{-}CHO + 1/2\ O_2 \xrightarrow{\text{enzimă}} R{-}COOH$$

După același mecanism se pot transforma α și γ-carotenii, când rezultă însă un singur mol de vitamină A, deoarece în moleculele acestor caroteni există un singur ciclu de β-iononă.

În peretele intestinal, retinolul este esterificat de către acidul palmitic (sau alți acizi grași) și sub această formă se depune în ficat. Din ficat, pe cale sanguină, este transportat la organe și țesuturi, unde își manifestă acțiunea fiziologică specifică.

Proprietăți și răspândire. Vitaminele A sunt insolubile în apă, se dizolvă însă în solvenți organici lipofili și în grăsimi.

Vitamina A_1 a fost obținută în stare cristalină în anul 1941; este de culoare galbenă și se topește la 63...64°C. Izomerul geometric, neovitamina A, izolat ca și retinolul din untura de pește este de asemenea o substanță cristalină, care se topește la 58...60°C. Acesta are activitatea vitaminică mai slabă cu circa 25% față de retinol.

Vitamina A_2 a fost izolată din uleiul extras din ficatul peștilor de apă dulce și identificată pe cale spectrală. Nu s-a obținut cristalizată. Activitatea ei biologică reprezintă doar 40% din activitatea vitaminei A_1.

Având duble legături în moleculă, vitaminele A sunt sensibile la agenți oxidanți; chiar oxigenul atmosferic și radiațiile ultraviolete le degradează. Gruparea alcoolică din moleculă poate fi esterificată; în uleiul de pește se găsește mai ales ca palmitat. Prin adiție de hidrogen vitaminele A își pierd proprietățile specifice biologice.

Prin fierberea alimentelor vitamina A și carotenii nu sunt afectați în mod sensibil.

În natură, vitaminele A se găsesc numai în regnul animal. Se obțin din untura de pește, din ficatul urșilor polari și din ficatul animalelor sacrificate în abatoare (30 mg%). Se mai găsesc în lapte, unt, rinichi, gălbenuș de ou.

O unitate internațională (1 UI) de vitamină A reprezintă 0,344 μg acetat de vitamină A_1 și respectiv 0,3 μg retinol; ea echivalează cu 0,6 μg β-caroten pur. Un gram de vitamină A_1 conține $3{,}33 \cdot 10^6$ U.I.

În continuare, se prezintă conținutul de vitamină A al unor alimente frecvent folosite, exprimat în unități internaționale la 100 g alimente:

Unt	2400	Roșii	1100 3000
Ouă	1000 1140	Cartofi	3800 7700
Lapte	70 230	Ulei de pește	40 000 400 000
Brânză	1200 1740	Somn	80 25 000
Ficat	4000 45 000	Sardele	136 290
Morcovi	10 000 20 000	Zarzavaturi	80 1200

Rol în organism. Vitaminele A au multiple roluri în organism.

Primul semn al lipsei de vitamină A în organism este dat de slăbirea vederii; apare fotofobia, iar ochiul nu se adaptează ușor de la o luminozitate mai intensă la una mai slabă. Apare o diferență mărită de adaptare a ochiului la lumina crepusculară (hemeralopie). Dacă lipsa vitaminei A persistă sunt lezate țesuturile epiteliale, funcționarea epiteliului glandelor lacrimale este perturbată, corneea ochiului se usucă și apare boala denumită xeroftalmie (xeros-uscat). Dacă boala progresează apare ramolirea și necrozarea corneei, proces cunoscut sub numele de cheratomalcie. Prin administrarea de vitamină A, aceste perturbări dispar, motiv pentru care aceasta se mai numește și vitamină antixeroftalmică.

Importanța deosebită a vitaminei A în procesul vederii constă în menținerea capacității organismului de regenerare a rodopsinei, numită altădată purpura vizuală sau purpura retiniană. Din punct de vedere chimic, rodopsina este o cromoproteidă (pigment de culoare roșcată), fiind alcătuită dintr-o parte proteică numită opsină, iar partea neproteică (gruparea prostetică) este retinenul sau 11 *cis* retinalul. Rodopsina este o substanță sensibilă la lumină, sub influența căreia se descompune în opsină și retinen (11 *cis*-retinal).

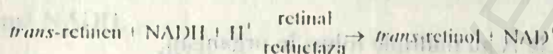
Retina umană și cea a animalelor vertebrate conține două tipuri de celule fotosensibile (acceptoare de lumină): celule în formă de bastonașe și celule în formă de conuri. În primele se găsește rodopsina, iar în cele din urmă se găsește iodopsina. Iodopsina este de asemenea o cromoproteidă (pigment violet), alcătuită dintr-o proteină numită fotopsină și din aceeași grupare prostetică care se găsește și în rodopsină, adică retinenul. Sensibilitatea la lumină a iodopsinei este diferită de a rodopsinei; în timp ce iodopsina este sensibilă la lumina colorată, rodopsina este sensibilă la variațiile de la lumină la întuneric și invers. Apare logic ca celulele în formă de bastonașe să fie sensibile la intensitățile luminoase mici și nu sesizează culorile; ele participă în procesul vederii la

întuneric, respectiv sunt implicate în vederea crepusculară și nocturnă. Celulele în formă de conuri, care conțin iodopsină, sesizează culorile, sunt sensibile la intensități luminoase mari și deci implicate în vederea la lumina zilei.

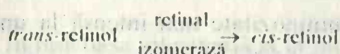
Deoarece atât rodopsina cât și iodopsina au proprietăți asemănătoare, având structuri chimice asemănătoare, în procesul biochimic al vederii ele se comportă asemănător.

Supusă influenței luminii sau iradierii, rodopsina trece în lumirodopsină, care conține în moleculă izomerul *trans* al retinenului; a avut loc deci o izomerizare a retinenului din forma *cis* în forma *trans*. Această izomerizare este o reacție fotochimică. Lumirodospina se transformă apoi în metarodopsină, când are loc și o modificare a conformației opsinei, însoțită de transmiterea excitației vizuale. Procesul continuă prin scindarea hidrolitică a rodopsinei, rezultând opsină și retinen - forma *trans*, pigmentul decolorându-se.

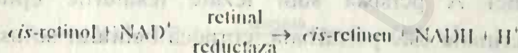
Trans-retinenul nu se poate lega de opsină, spre a reface rodopsina; este necesară izomerizarea lui la forma *cis*, după o reacție enzimatică:



$$trans\text{-retinen} + NADH + H^+ \xrightarrow[\text{reductaza}]{\text{retinal}} trans\text{-retinol} + NAD^+$$



$$trans\text{-retinol} \xrightarrow[\text{izomeraza}]{\text{retinal}} cis\text{-retinol}$$



$$cis\text{-retinol} + NAD^+ \xrightarrow[\text{reductaza}]{\text{retinal}} cis\text{-retinen} + NADH + H^+$$

A apărut astfel retinenul sub formă *cis* (*cis*-retinenul), care este capabil să se combine cu ospina, la întuneric, spre a forma rodopsina, care reintră în ciclul vizual.

Retinenul nu se reface în totalitate în ciclul vizual, ceea ce determină necesitatea introducerii neîntrerupte a vitaminei A în organism. Un aport insuficient de vitamină A duce la slăbirea vederii.

Cercetările au pus în evidență faptul că prin schimbarea conformației opsinei este influențată mobilitatea ionilor de calciu (trecerea lor prin membrane) care, plecând din celulele cu bastonașe (din așa-numitele vezicule discoide), declanșează impulsul nervos, acești ioni cuplând activitatea sistemului receptor cu sistemul fotoexcitant (fiind meditatori).

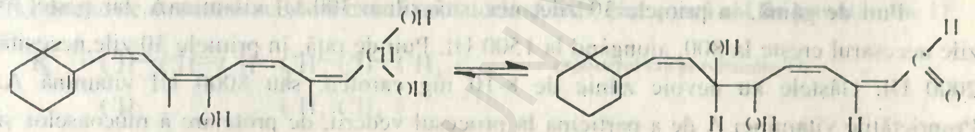
În avitaminoza A sunt lezate epiteliile; apare keratinizarea epidermei, proces ce se petrece și la nivelul laringelui, încât apar răgușeli. Sunt lezate și epiteliile căilor urinare, ale tubului gastrointestinal (apar colite), ale arborelui respirator (apar bronșite uscate), cât și epiteliile gingivale. Prin menținerea integrității pielii și mucoaselor, vitamina A împiedică accesul în organism a germenilor patogeni; crește astfel rezistența organismului la infecții, ceea ce justifică și denumirea de vitamină antiinfecțioasă.

Lipsa din organism a vitaminei A perturbă și funcționarea unor glande, ca glandele lacrimale, sebacee, sudoripare, stomacale. Este influențat și metabolismul calciului, cât și procesul de creștere a oaselor, care este stimulat de prezența vitaminei A.

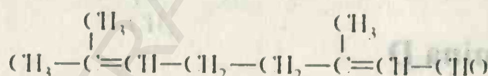
Se cere subliniată importanța vitaminei A și în procesul de reproducere, ca determinând o dezvoltare normală a testiculelor și ovarelor, precum și funcționarea lor. Influențează sinteza progesteronei și a altor hormoni steroizi. De asemenea, intervine în activitatea unor enzime. Stimulează formarea globulelor roșii, metabolismul protidic și glucidic.

Necesarul zilnic de vitamină A pentru om depinde de greutatea corporală, vârstă, starea fiziologică; exprimat în UI, acesta variază între 1500 și 5000, iar pentru femeile însărcinate sau în timpul lactației necesarul zilnic este de 6000-8000 UI. Dacă ochiul este solicitat mai mult (piloții, șoferii, sportivii ce practică tirul) necesarul de vitamină A pentru organism este mai mare.

Antivitamine A. Modificarea structurii chimice a vitaminelor A duce la scăderea sau dispariția activității lor biologice, transformându-le în antivitamine. Se cunosc puține antivitamine A. Un exemplu îl constituie derivatul hidroxilat în catena laterală a β-carotenului; produsul se formează prin scindarea oxidativă a acestuia:



Un alt produs, cunoscut sub numele de citrol, se consideră o antivitamină A. Citrolul este un terpenoid aciclic, cu următoarea structură chimică:



Rolul vitaminei A în zootehnie. Vitamina A prezintă o mare importanță în creșterea animalelor tinere; lipsa ei din hrană duce imediat la încetarea creșterii, secondată de scăderea în greutate, fapt pentru care vitamina A se mai numește vitamina creșterii. Această vitamină are proprietatea de a stimula formarea celulelor și creșterea nucleelor celulare. Probabil că procesul creșterii este favorizat de acidul retinoic, produs care nu intervine în procesul vederii.

În avitaminoza A, la animale se ivește scăderea poftei de mâncare și apare atrofierea glandelor salivare și a celulelor gustative. Când lipsa vitaminei A din alimentația animalelor se prelungește, apar infecții și într-un interval de 50-60 zile survine moartea. Dacă animalele sunt menținute într-o atmosferă sterilă (lipsită de germeni patogeni), pot trăi în carență de vitamina A aproximativ 9 luni de zile, urmând apoi moartea prin blocarea funcțiilor digestive sau renale.

Lipsa vitaminei A din hrana animalelor mature determină tulburări în procesul de reproducere. Se instalează un fenomen de atrofiere a testiculelor și respectiv a ovarelor, ceea ce duce la scăderea fertilității; este stânjenită spermatogeneza. La femele în perioada

de gestație carența în vitamina A determină resorbția fătului, sau pierderi postnatale; apare prelungirea ciclului oestral și fecunditatea redusă la vaci. Juncile hrănite cu furaje sărace în caroten ajung la maturitate sexuală la o vârstă mai înaintată decât cele alimentate cu furaje bogate în caroten. Se consideră că procesul de reproducere este dirijat și controlat atât de retinol, cât și de acidul retinoic.

Dacă se administrează animalelor un regim alimentar cu un conținut prea ridicat în vitamina A, se produc modificări ale oaselor, acestea devin subțiri și sunt predispuse la fracturi.

În lipsa vitaminei A din hrana păsărilor, apare scăderea producției de ouă, concomitent cu scăderea în greutate.

Cercetările au dus la constatarea că taurii au nevoie zilnic de 1 mg/kilocorp caroten, iar pentru vierii de reproducție sunt necesare aproximativ 2 mg/kilocorp. Și berbecii de reproducție necesită zilnic mai multă vitamină A.

Vacile și oile, în perioada de gestație, au nevoie de o cantitate de caroten aproximativ dublă, față de necesarul zilnic, din perioada normală.

Vițeii în creștere cu greutatea între 40 și 140 kg, au nevoie zilnic de 30-105 mg caroten, iar la tineret pentru o greutate de 200 kg necesarul zilnic este de 120 mg caroten.

Puii de găină, în primele 30 zile, necesită zilnic 300 UI vitaminaA, iar peste 30 zile necesarul crește la 800, ajungând la 1500 UI. Puii de rață, în primele 30 zile,necesită 2000 UI. Gâștele au nevoie zilnic de 8-10 mg caroten, sau 8000 UI vitamină A. Proprietățile vitaminei A de a participa la procesul vederii, de protejare a mucoaselor și epiteliilor, deci și proprietatea de a fi antiinfecțioasă, se regăsesc și în cazul animalelor. De exemplu, hemeralopia se manifestă frecvent la păsări, maladie cunoscută sub numele de orbul găinilor.

1.2.2. Vitamina D

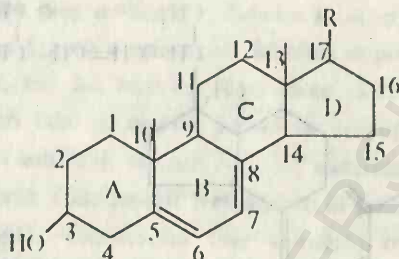
Generalități. Vitaminele D sunt cunoscute sub numele de vitamine antirahitice, ale căror provitamine aparțin sterolilor.

Rahitismul este o boală a oaselor tinere și constă într-o depunere insuficientă a fosfatului de calciu în oase, ceea ce explică arcuirea picioarelor sau deformarea altor organe osoase. Boala se cunoaște de multă vreme, fiind descrisă prima dată în 1582, de Reussner și apoi în 1650, de medicul Glisson. În anul 1822, s-a constatat că uleiul din ficatul unor pești marini vindecă rahitismul. În 1919 s-a constatat că, prin expunerea bolnavilor la soare, rahitismul se vindecă, ceea ce apare și prin iradierea cu raze ultraviolete; același efect apare prin iradierea alimentelor bolnavului. S-a tras concluzia că în pielea bolnavilor și în hrană există o substanță care, prin iradiere, dobândește proprietăți antirahitice.

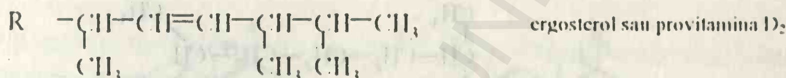
Mc Collum a stabilit în 1921 că factorul antirahitic este diferit de vitamina A și i-a dat numele de vitamina D. S-a stabilit apoi că grăsimile, respectiv grupele nesaponificabile ale grăsimilor, au proprietatea ca prin iradiere să dobândească proprietatea antirahitică. Cercetările au demonstrat că unii steroli, mai ales fitosteroli nepurificați, prin iradiere capătă proprietăți de vitamină D.

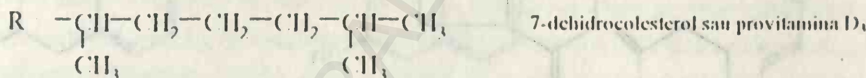
Cercetările întreprinse de Adolf Otto Reinhold Windaus (1876-1959) în 1926 au dus la concluzia că ergosterolul este provitamina D, iar în 1932 s-a izolat o vitamină D în stare cristalină, căreia i s-a spus vitamina D_2.

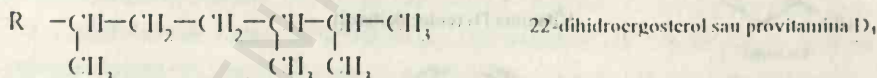
Provitamine D. Rolul de provitamine D îl au unii steroli. Sterolii sunt alcooli ciclici, derivați ai hidrocarburii ciclopentanoperhidrofenantren. Toți sterolii au o catenă laterală în poziția 17, o funcție alcoolică în poziția 3, iar în cel de al doilea ciclu hexagonal (B) au două duble legături (pozițiile 5 și 7); ei răspund următoarei structuri chimice generale:

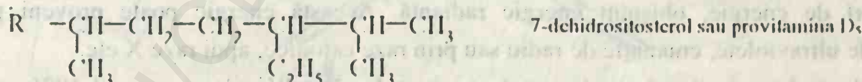


Deosebirea dintre steroli constă în structura chimică diferită a catenei din poziția 17. Funcție de structura acesteia există următorii steroli, care joacă rol de provitamine D:

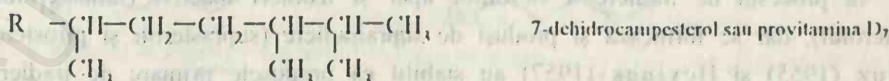








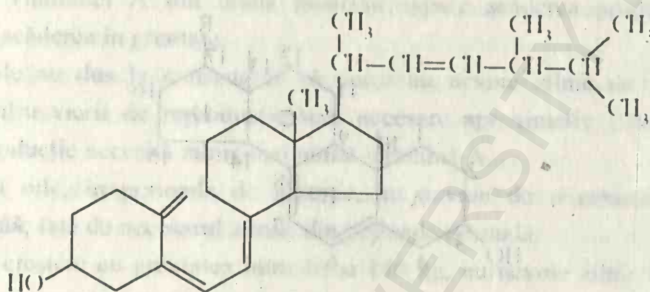




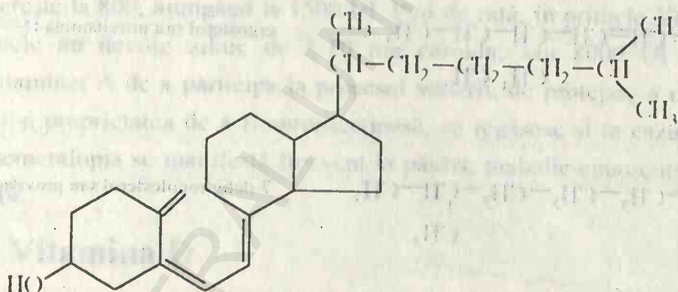
Ergosterolul este un micosterol, izolat din drojdia de bere, iar sitosterolul și stigmasterolul sunt fitosteroli. Colesterolul este un zoosterol, izolat din ficat.

Structuri chimice ale vitaminelor D. Din punct de vedere chimic vitaminele D sunt izomeri ai sterolilor, care îndeplinesc funcții de provitamină D respectivă. Trecerea provitaminelor în vitaminele D corespunzătoare se petrece prin iradiere cu raze ultraviolete; astfel, ergosterolul suferă un proces de fotoizomerizare și se transformă în vitamină D_2 sau calciferol, 7-dehidrocolesterolul în vitamina D_3, sau colecalciferol. Practic, prin iradiere are loc deschiderea celui de al doilea ciclu hexagonal (B) când gruparea metil din poziția 10 trece în gruparea metilenică.

Structurile chimice ale acestor două vitamine antirahitice se prezintă mai jos:



Vitamina D_2 numită și ergocalciferol



Vitamina D_3 (colecalciferol)

Fotoizomerizarea provitaminelor D în vitaminele D corespunzătoare se face printr-un aport de energie, obișnuit energie radiantă. Această energie poate proveni prin radiațiile ultraviolete, emanație de radiu sau prin raze catodice, apoi raze X etc.

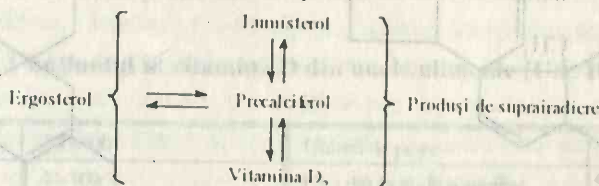
Studiul proceselor de iradiere a fost inițiat de către Windaus în anul 1926, când s-au obținut primele preparate antirahitice, prin iradierea ergosterolului.

Structura chimică a vitaminei D_2 a fost stabilită tot de către Windaus și colaboratorii, în 1936.

În procesul de iradiere a sterolilor apar și izomeri inactivi (lumisterolul și tahisterolul), dar se formează și produși de suprairadiere (suprasteroli și pirosteroli). Velluz (1955) și Hevings (1957) au stabilit că produsele primare de iradiere a provitaminelor D sunt precalciferolii, sau provitamine D. Prin continuarea iradierii precalciferolii se transformă în lumisterol și tahisterol, produși secundari ai reacției și nu

intermediari în procesul de formare a calciferolilor, cum se considera altădată. Trecerea precalciferolilor în acești doi produși secundari nu se face fotochimic, ci termic.

Iradierea ergosterolului se poate reda prin următoarea schemă:



Precalciferolul rezultă prin desfacerea ciclului B al ergosterolului, păstrându-se grupa metil din poziția 10 și formarea unei duble legături în poziția 5-10; este izomer cu ergosterolul. În continuare, are loc trecerea unui atom de H de la metil spre C_9 și schimbarea dublelor legături care se mențin în sistem conjugat rezultând calciferolul, transformare ce are loc și în soluții de benzen la 60°C, stabilindu-se un echilibru de 85% calciferol și 15% precalciferol. Calciferolul format este în poziția *cis*; în stare cristalină molecula are formă alungită. Tahisterolul este izomerul *trans* al precalciferolului, considerat față de dubla legătură din poziția 6-7.

Structurile chimice care se formează prin iradierea ergosterolului sunt redate în continuare.

Ergosterol

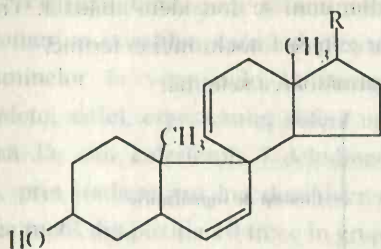
Precalciferol

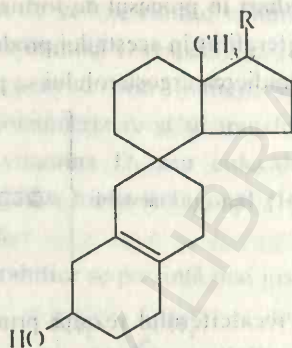
Tahisterol

Calciferol

Lumisterol

Produșii de suprairadiere, suprasterolii, cu următoarele structuri chimice, nu au activitatea biologică:





Suprasterol I Suprasterol II

Procesul de fotoizomerizare la vitamina D pentru ceilalți steroli decurge analog ergosterolului.

Amestecul echimolecular de calciferol și lumisterol a fost numit vitamina D_1.

Proprietăți și răspândire. Vitaminele D sunt substanțe solide cristaline, cu puncte de topire caracteristice, insolubile în apă, solubile în grăsimi și solvenți lipofili. Sunt termostabile; încălzite la temperaturi de peste 130°C se distrug. Sunt sensibile la oxidare, când își pierd proprietățile antirahitice. La iradiere prelungită se transformă în substanțe toxice.

Prin esterificarea grupării alcoolice din poziția 3, proprietățile antirahitice dispar. Catenele laterale din poziția 17 nefiind identice, le diferențiază activitatea antirahitică. Această activitate dispare prin hidrogenare.

Vitamina D_2 se prezintă sub formă de cristale aciculare albe, inodore și insipide. Este solubilă în uleiuri, cloroform, acetonă, benzen, alcool absolut etc. Se topește între 116 și 118°C; este optic activă. Prin încălzire la circa 180°C își pierde proprietățile biologice. La temperaturi scăzute este stabilă; menținută la -25°C, timp de doi ani, își păstrează activitatea. Este sensibilă la acțiunea oxigenului atmosferic și în medii acide. Acizii minerali puternici o distrug. Față de alcalii prezintă o oarecare stabilitate.

În medii de cloroform și prezența de triclorură de stibiu determină apariția unei colorații galben-portocalie, intensitatea acestei colorații fiind proporțională cu concentrația vitaminelor. Această reacție stă la baza determinării ei cantitative.

O unitate internațională de vitamină D corespunde la 0,025 mg vitamină D_2 pură; rezultă că 1 g vitamină D_2 reprezintă 40 000 000 UI.

Vitamina D_3 sau colecalciferolul este de asemenea solidă, se prezintă sub formă de cristale albe, nu are miros, nici gust, se dizolvă în eter, cloroform, alcool, acetonă etc. Este optic activă. Are punctul de topire între 84 și 88°C. Este mai puțin toxică decât vitamina D_2 și mai bine absorbită de organismul uman.

Vitaminele D se găsesc în natură în cantități mici; provitaminele lor însă se găsesc în cantități cu mult mai mari. Cele mai importante surse sunt uleiurile de pește și mai ales uleiul obținut din ficatul de pește. De asemenea, grăsimea de sub pielea diferiților pești conține cantități apreciabile de vitamină D. În cantități mici se găsesc în unt, lapte și

gălbenuş de ou. Unele produse vegetale cum sunt boabele de cacao, câteva specii de ciuperci conţin şi ele cantităţi mici de vitamină D.

Vitaminele D se obţin şi sintetic.

Tabelul 1.3. **Conţinutul în vitamină D din unele alimente (U.I./100 g produs)**

Gălbenuş de ou	200-500	Untură de peşte	8 000-12 000
Unt	40-100	Ulei din ficat de scrumbie	75 000
Ficat de vită	20-200	Heringi	5 000-20 000
Lapte	2,5-3,8	Ulei din ficat de rechin	5 000
Sardele	10 000-20 000	Ulei din ficat de focă	5 000 -10 000

Organismul omenesc le absoarbe la nivelul intestinului subţire, în prezenţa bilei. Pot fi depozitate în ficat, creier, rinichi şi in special în piele, unde se găsesc şi cantităţi însemnate de provitamină D.

În ficat, calciferolii sunt oxidaţi la 25 - hidroxicalciferoli, care au o activitate cu 40% mai mare decât vitamina D. În rinichi, 25-hidroxicalciferolul trece în 1,25 - dihidroxicalciferol care este şi mai activ. Aceeaşi transformare oxidativă o suferă şi colecalciferolul.

Rol în organism. Absenţa vitaminelor D din organismul animal duce la perturbarea metabolismului calciului şi forforului, a procesului de osificare şi la apariţia rahitismului.

Rahitismul este o boală care apare la tineret; ea se manifestă printr-o depunere insuficientă a fosfatului de calciu în oase şi dinţi. În rahitism ţesutul cartilaginos continuă să crească, încât oasele devin moi şi se deformează. Apar unele îngroşări de oase, capul creşte mare, muşchii sunt relaxaţi, iar abdomenul mărit. Dinţii apar mai târziu. Copii rahitici se îmbolnăvesc uşor, iar mortalitatea în rândul lor este mai mare.

La adulţi avitaminoza D se manifestă prin ramolirea oaselor, ceea ce apare mai frecvent la femeile gravide (osteomalacie). În acest caz oasele se decalcifiază şi se pot chiar curba. Este posibil să apară şi rarefierea materiei osoase (osteoporoză), oasele se rup uşor, iar fracturile se vindecă greu. Pentru o osificare normală raportul Ca/P are valoarea 1, maximum 2; dacă raportul este 3, apare rahitismul.

Acţiunea antirahitică a vitaminelor constă în favorizarea absorţiei calciului la nivelul intestinului şi mărirea permeabilităţii membranelor pentru ionii Ca^{2+}. În acelaşi timp, ele catalizează biosinteza unor proteine specifice, care determină trecerea ionilor de calciu în lichide biologice. Acest rol activ, la nivelul mucoasei intestinale, îl are practic 1,25-dihidroxicolecalciferolul, care se consideră că este un hormon.

Formarea lui este activată de hormonul paratiroidian, care este secretat în cantităţi mai mari când concentraţia în Ca^{2+} scade sub normal. 1-Hidroxi şi 1,25-dihidroxi colecalciferolul ajută la sinteza ARN-ului în intestin, iar acesta joacă rol de matrice în biosinteza proteinelor.

Prezența vitaminelor D favorizează o osificare normală, determinând o calcifiere corectă a matricei osoase. Fixarea calciului în oase este influențată și de acidul citric. În prezența vitaminelor D are loc o formare normală și a cartilajelor osoase.

La nivelul rinichiului, vitaminele D influențează eliminarea calciului. Ele intervin și în metabolismul substanțelor plastico-energetice; acționează în ciclul Krebs. Activitatea vitaminelor D este corelată cu unii hormoni (corticosteroizi, tiroxina, androgeni). Vitaminele D influențează și metabolismul fierului, magneziului, acidului citric etc. Vitamina D_3 este mai activă decât D_2.

Necesarul zilnic pentru copii este de 400 600 UI, iar în avitaminoză D se administrează 5000 60 000 UI pe zi. Folosirea lor în doze mult mai mari duce la hipervitaminoză D, când apare creșterea calcemiei, inflamări renale, calcifierea unor țesuturi moi, a vaselor, depuneri de calciu, în rinichi, inimă, vomă, diaree, epuizare fizică, scădere în greutate. Are loc și o decalcifiere a oaselor.

Antivitamine D. Se cunosc câteva substanțe care pot fi considerate ca antivitamine D. Din această categorie fac parte unii steroizi. Se consideră că acetatul de cortizonă mărește efectele hipervitaminozei D. Actinomicina poate avea efect de antivitamină D, precum și alți produși antibiotici.

Unele vitamine pot manifesta o acțiune opusă vitaminelor D, cum sunt: vitaminele B_1, B_{12}, E, A. Rol de antivitamină D poate juca și cisteina, fenobarbitalul, cât și unii acizi grași.

Dintre substanțele anorganice se pot cita: hidroxidul de aluminiu, ionii SO_4^{2-}, Mg^{2+} etc. care au acțiune rahitogenă, împiedicând absorția ionilor de calciu, legându-i chimic sau substituindu-i din fosfatul tricalcic.

Rolul vitaminelor D în zootehnie. Lipsa vitaminelor D provoacă animalelor tinere rahitismul, iar celor adulte, osteomalacia și osteoporoza, similare omului. În avitaminoză D, animalele absorb mai puțin de 20% din cantitatea de calciu introdus în organism; în prezența vitaminelor D procentul de calciu absorbit depășește 50%, ajungând la 60%. În același timp, vitaminele D determină scăderea *p*H-ului din intestinele animalelor, favorizând absorția calciului și fosforului; *p*H-ul ridicat favorizează decalcifierea oaselor.

Vitaminele D intervin în procesele de trecere a fosforului organic în fosfor anorganic, favorizând mineralizarea țesutului osos. În carență de vitamină D, pe lângă apariția osteomalaciei la femelele gestante, nou-născuții apar cu malformații. Se cunosc cazuri de naștere a purceilor cu conformația scheletică perturbată; ca o consecință a lipsei de vitamină D în alimentația scroafelor.

La păsări, avitaminoza D se manifestă prin deformarea scheletului osos, cât și prin scăderea producției de ouă; ouăle care se formează în aceste condiții au coajă subțire, se sparg ușor, iar procentul de ecloziune scade. Cantitatea de vitamină D din hrana păsărilor este proporțională cu cantitatea în acest produs care apare în ouă. Producția de lapte este foarte puțin influențată de vitaminele D.

S-a constatat că activitatea antirahitică a vitaminei D_3 este de 30 de ori mai mare la puii de găină, decât cea a vitaminei D_2.

În uzul veterinar se folosesc preparate alcătuite dintr-o soluție de vitamină D în ulei vegetal, care apoi se dispersează în hrana vitelor, a păsărilor, în mod obișnuit în concentrate, făină, boabe etc. La păsări este recomandată administrarea vitaminei D_3; mamiferele pot folosi și vitamina D_2, introducând în hrană drojdie de bere iradiată.

Animalele ținute în grajduri întunecoase sunt predispuse la rahitism și crize de tetanie, iar sporul în greutate este mic. S-a calculat că prin iradiere solară apar 375-560 UI vitamină D într-o zi și pentru o suprafață de 1000 cm^2. Rezultă în mod convingător că, în timpul zilelor însorite, animalele trebuie scoase din grajduri.

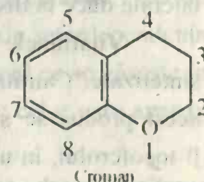
1.2.3. Vitamine E

Generalități. Vitaminele E, cunoscute și sub numele de tocoferoli (tokos naștere), vitamine de reproducere sau antisterilice, sunt produși organici răspândiți în natură în vegetale și mai ales în uleiurile vegetale.

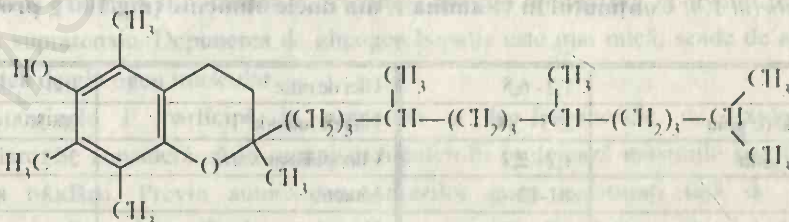
Denumirea lor a fost dată de Evans (1922) și Sure (1923), care au arătat că tulburările în nutriția embrionului, a formării spermatozoizilor, se datorează absenței din hrană a unui factor liposolubil, care se găsește în cantitate apreciabilă în germenele de grâu și mai ales în uleiul extras din acest germene. Mai târziu a fost pusă în evidență de către Evans în germenele altor cereale și în grăsimea din ficat sau din mușchi. Sub formă concentrată și pură a fost obținută în 1927 de către Evans și Burr. Cercetările ulterioare conduse de Evans au pus în evidență mai multe substanțe, cu proprietăți biologice asemănătoare, aparținând tocoferorilor, numite astăzi α, β, γ și δ-tocoferoli.

În anul 1938, Fernholz a stabilit structura chimică a α-tocoferolului și în același an Karrer l-a obținut sintetic. Au urmat apoi alte sinteze ale tocoferolilor, confirmându-se pe această cale și structura lor chimică.

Structuri chimice ale vitaminelor E. Din punct de vedere chimic vitaminele E sunt derivați de croman (dihidrobenzopiran), pe a cărui moleculă sunt grefate grupări metilice, o funcție fenolică și un rest de fitol în poziția 2. Se cunosc α-, β-, γ- și δ-tocoferolul, produși care diferă între ei prin numărul și poziția grupărilor metilice legate de nucleul de croman. α- și β- Tocoferolul s-au izolat din germenele de grâu, iar γ- și δ-tocoferolul s-au izolat din uleiul de semințe de bumbac și respectiv din uleiul de soia. α-Tocoferolul are următoarea structură chimică: 2,5,7,8-tetrametil, -2(4',8',12'-trimetil-tridecil), -6-hidroxi-croman.



Croman



Ținând seama că produsul 2-metil,-2(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxi-croman se numește tocol, atunci α-tocoferolul este 5,7,8-trimetiltocolul.

β-Tocoferolul se numeşte 5,8-dimetiltocol, iar izomerul său γ-tocoferolul este 7,8-dimetiltocolul. Ultimul, δ-tocoferolul, are o singură grupare metilică în poziţia 8, fiind deci 8-metiltocolul.

În afară de tocoferolii indicaţi anterior se mai cunosc şi alţii, izolaţi din uleiuri vegetale, şi anume: ε-tocoferolul sau 5-metiltocol, ζ-tocoferolul care este 5,7-dimetiltocol şi η-tocoferolul sau 7-metiltocol.

Structurile chimice ale tocoferolilor s-au confirmat prin sinteze, condensând derivaţi ai hidrochinonei cu bromură de fitil sau cu fitol.

Proprietăţi şi răspândire. În condiţii obişnuite de temperatură, tocoferolii sunt substanţe lichide, cu aspect uleios, incolori sau slab gălbui. Se dizolvă în solvenţi organici: benzen, cloroform, eter de petrol sau în grăsimi. Sunt insolubili în apă. Cu acizii organici formează esteri, care se prezintă şi sub formă cristalină.

Tocoferolii sunt stabili la temperaturi ridicate, în atmosfere inerte. Prezintă activitate optică.

Au proprietăţi antioxidante puternice; cea mai mare acţiune antioxidantă o are δ-tocoferolul. Această proprietate chimică se manifestă şi în organismele vii.

Tocoferolii sunt sensibili la acţiunea oxigenului şi a oxidanţilor în general. Prezenţa radiaţiilor ultraviolete favorizează procesul de oxidare. Sub formă de esteri, tocoferolii prezintă mai mare stabilitate faţă de agenţii oxidanţi. Dintre esteri, acetatul şi benzoatul îşi păstrează acţiunea biologică. Esterii tocoferolilor nu sunt antioxidanţi.

Prin oxidarea tocoferolilor, funcţie de condiţiile procesului şi natura agentului de oxidare, apar produşi diferiţi, obişnuit coloraţi. În soluţii alcaline şi la temperaturi sub 40°C sunt stabili.

Cea mai mare activitate biologică o are α-tocoferolul; β-tocoferolul are doar 20%, γ-tocoferolul 10%, iar δ-tocoferolul doar 1% din activitatea primului. Modificarea catenei laterale duce la dispariţia proprietăţilor vitaminice.

Vitaminele E sunt răspândite în natură, mai ales în regnul vegetal, unde pot fi sintetizate. Cantităţi mai ridicate se găsesc în germenele de grâu (2,55 mg/g), de unde acest produs se şi extrage. În germenele de grâu se găseşte pe lângă α-tocoferol şi β-tocoferolul, în uleiul din seminţe de bumbac se găseşte α- şi γ-tocoferolul, iar în uleiul de soia se găseşte γ-tocoferolul. Se mai găsesc în seminţe şi frunze, însoţind clorofila; în cantităţi mai mici se găsesc în salată şi pătrunjel.

Tabelul 1.4. **Conţinutul în vitamina E din unele alimente (mg/100 g produs)**

Grâu	1,2 - 6,5	Ulei de orez	100
Germene de grâu	255 - 500	Ulei de arahide	26 - 36
Făină de grâu	1,7 - 2,7	Conopidă sau varză	2 - 3
Soia	10 - 12	Morcov	1 - 3
Ulei de soia	118 - 200	Usturoi	8
Salată	3 - 4	Varză	0,7

Tabelul 1.4. (continuare)

Spanac	1,7-6	Țelină	2,6
Porumb	16-25	Pătrunjel	5,5
Ulei de porumb	100	Unt	1-3
Ulei de floarea-soarelui	51	Ouă	3
Ulei din ficat de pește	4-26	Lapte	1-2

În organismul animal nu se sintetizează; se introduc o dată cu hrana. În cantități mici se găsesc în ficat, rinichi, mușchi, placentă; se mai găsesc în lapte, ouă, unt.

Necesarul zilnic pentru omul adult este de 10-30 mg.

O unitate internațională de vitamină E reprezintă 1 mg acetat de α-tocoferol pur.

Rol în organism. Acțiunea vitaminei E în organismele animale nu este pe deplin lămurită.

Se cunoaște că în avitaminoza E se tulbură procesul de reproducție, apar distrofii musculare, insuficiență cardiacă, tulburări nervoase, cât și unele tulburări dermatologice.

Lipsa vitaminelor E din hrană duce la tulburarea metabolismului proteic, apare distrofia musculară, trecerea acizilor aminici în urină și slăbirea în general a structurii musculare. Consumul de oxigen crește. Distrofia musculară a fost observată la multe specii de animale. Concomitent sunt perturbate funcțiile unor enzime ce acționează metabolismul proteic, cât și sinteza unor acizi aminici.

De asemenea, în avitaminoză E apar anemii, atât la om, cât și la unele animale, datorită scurtării vieții eritrocitelor. Este perturbat și metabolismul nucleoproteidelor.

În avitaminoză E apar fenomene nervoase, paralizii, edeme, sângerări etc.

La masculi, lipsa de vitamină E duce la degenerarea testiculelor, modificări ale spermatozoizilor, pierderea motilității lor, scăzând capacitatea de fecundare. Aceste transformări sunt ireversibile. Astfel de perturbări s-ar putea explica prin interdependența ce există între vitamina E și arginină. Se știe că lipsa argininei, aminoacid ce se găsește în mare cantitate în spermă, determină perturbări testiculare asemănătoare celor care apar în avitaminoză E.

La femele, insuficiența vitaminei E nu influențează fecundația, dar dezvoltarea embrionului se prelungește, iar sarcina nu poate fi dusă până la capăt; de multe ori embrionul este resorbit și apare un avort spontan.

Hrana carențată în vitamina E determină apariția tulburărilor la nivelul ficatului și glandelor suprarenale. Depunerea de glicogen hepatic este mai mică; scade de asemenea și cantitatea de glicogen muscular.

Vitaminele E participă în organism și la fenomenele de oxidoreducere intracelulare. Se consideră că în organism tocoferolii protejează grăsimile și vitamina A împotriva oxidării. Previn autooxidarea acizilor grași nesaturați față de oxigenul molecular, acest oxigen fiind consumat de vitamina E. Protejează globulele roșii împotriva alterării chimice exercitată de substanțele din metabolism (H_2O_2) care produc hemoliza.

Necesarul zilnic de vitamină E pentru un om adult este de 10-30 mg. Acest necesar este asigurat de o alimentație zilnică normală.

Nu se poate considera că apar cazuri de hipervitaminoză E. Dacă însă se administrează doze mai mari de tocoferoli se poate observa tulburarea funcției ovariene la femei și apariția oligospermei la bărbați.

Animalele suportă bine administrarea unei hrane cu cantități mari de tocoferoli, fără să apară perturbări.

Antivitamine E. Unele substanțe organice cum sunt derivații de ortocrezol (di- sau trisubstituiți în catena laterală), precum și unii acizi grași nesaturați care, deși nu prezintă analogie structurală cu tocoferolii, au totuși în organism proprietăți opuse acestora. În prezența lor se produce scăderea concentrației în vitamina E, la nivelul plasmei și a unor țesuturi.

Există păreri conform cărora grăsimile rânceede distrug vitamina E.

Rolul vitaminelor E în zootehnie. Datorită proprietății de a fi vitamina fecundității, vitamină antisterilică și de reproducție, vitamina E are un rol deosebit de important în zootehnie. De asemenea, influența ei în metabolismul proteinelor, în sistemul enzimatic, în procesele de oxidoreducere tisulară, în menținerea integrității țesutului muscular etc. duce la aceeași concluzie.

Importanța acestor vitamine pentru sectorul zootehnic a determinat apariția multor studii și cercetări experimentale, în scopul cunoașterii detaliate a rolului tocoferolilor pentru diferite specii de animale, vizând aplicarea în practică a rezultatelor obținute.

S-a observat că în avitaminoză E apare distrofia musculară la ovine, porcine, cabaline, iepuri, vulpi, șobolani; acest aspect interesează deci și din punct de vedere zootehnic.

Hipovitaminoza E afectează toate păsările domestice, cu preponderență tineretul și în mod deosebit puii de găină.

În lipsă de vitamină E puii de găină manifestă tulburări sanitare și apare o mortalitate crescută în primele 10-15 zile; fenomene asemănătoare se observă și în cazul puilor de curcă.

Unele animale ca tauri, țapi, berbeci, curcani, cocoși suportă bine carența vitaminei E, fără să apară leziuni testiculare.

La scroafele în gestație, avitaminoza E determină hemoragii la embrioni și moartea lor. Purceii născuți de scroafe cu avitaminoză E cresc mai greu sau mor imediat după naștere.

Lipsa vitaminei E din hrana ovinelor nu afectează reproducerea, dar determină apariția distrofiilor musculare, iar mieii născuți în aceste condiții prezintă insuficiență în sănătatea lor.

Carența vitaminei E la păsări nu scade producția de ouă, ci duce la scăderea procentului de ecloziune și la moartea embrionilor.

Vitamina E menține integritatea țesutului muscular și ajută la cicatrizarea rănilor.

Avitaminoza E la animale tinere, și mai ales la păsări, duce la anemii și la pierderea echilibrului, putând apărea și moartea.

Tocoferolii au rol important şi în metabolismul lipidelor şi glucidelor, al apei şi sărurilor minerale. Ei favorizează depozitarea glicogenului în ficat şi muşchi şi protejează grăsimile. În lipsa lor, reţinerea apei în corp este amplificată şi apar edeme, mai ales la nivelul membrelor.

Vitamina E influenţează şi procesul creşterii, acţionând prin intermediul hipofizei; această vitamină condiţionează sinteza hormonilor hipofizari.

Vitaminele E şi A au acţiuni sinergice, tocoferolii protejând vitamina A şi carotenii faţă de agenţii oxidanţi. Animalele domestice prezintă manifestări clinice asemănătoare în lipsa de vitamină A şi E; prin administrarea controlată a acestor vitamine, se îndepărtează insuficienţele ce apar în procesele de reproducţie şi creştere a acestor animale.

1.2.4. Vitamine K

Generalităţi. Vitaminele K se denumesc şi vitamine de coagulare sau antihemoragice, deoarece în lipsa lor apar hemoragii şi scade capacitatea sângelui de a se coagula.

Cercetări întreprinse în Danemarca de către Henrik Carl Dam (1895-1975), asupra puilor de găină hrăniţi cu alimente degresate, au dus la concluzia că aceştia nu se dezvoltă şi prezintă hemoragii subcutanate, intramusculare şi viscerale, apoi mor. Dacă în hrana puilor se introduceau frunze verzi de lucernă, spanac etc., perturbările dispăreau, ceea ce l-a determinat pe Dam (1929) să considere că aceste vegetale conţin o substanţă cu proprietăţi antihemoragice, dându-i numele în 1935 de vitamină K (Koagulationsvitamin).

Schonheider a ajuns la concluzia că coagularea întârziată a sângelui este corelată cu scăderea cantităţii de protrombină, care revine la normal prin administrare de vitamină K.

Cercetări întreprinse de Karrer, Doisy şi Mckee (1939) au dus la izolarea unui factor antihemoragic din vegetale, numit vitamina K_1, iar din făina de peşte în putrefacţie s-a izolat un alt factor antihemoragic, numit vitamina K_2.

Maynard şi Loosli au obţinut din stigmatul porumbului o altă substanţă antihemoragică, denumită vitamina K_3.

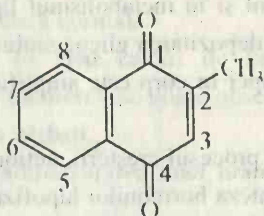
Proprietăţi antihemoragice s-au observat mai târziu şi la alte substanţe, sintetice.

Vitamina K a fost obţinută sintetic de către Isler în anul 1939 şi de către Almquinst şi Klose în 1940.

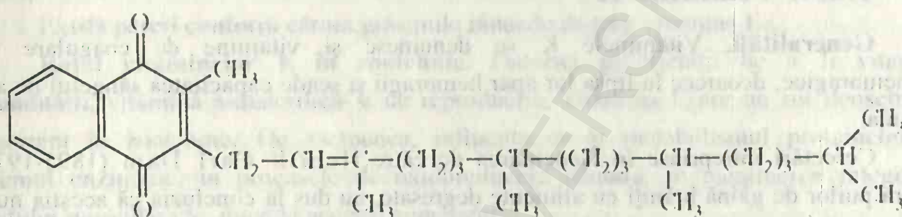
Structuri chimice ale vitaminelor K. Din punct de vedere chimic vitaminele K sunt derivaţi de 1,4-naftochinonă, pe moleculele căreia se găseşte grefat un radical metil şi o catenă laterală.

Din categoria vitaminelor K fac parte un număr mare de substanţe (circa 70), care sunt derivaţi ai celor trei reprezentanţi cunoscuţi mai de multă vreme, adică vitaminele K_1, K_2, K_3. Atât în structura chimică a vitaminei K_1 cât şi a vitaminei K_2 se găseşte 2-metil-1, 4-naftochinona, produs cunoscut sub numele de menadionă sau vitamina K_3.

Dacă hidrogenul din poziţia 3 este substituit cu radicali organici, apar alte vitamine K.

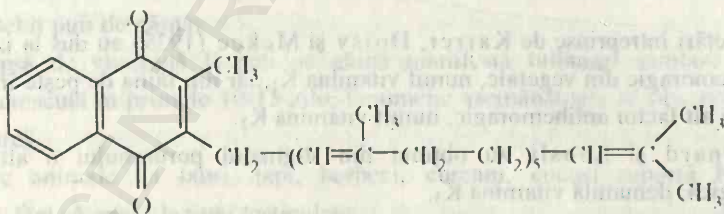


Structura chimică a vitaminei K_1 s-a confirmat prin sinteză, aceasta realizându-se din menadionă şi bromură de fitil, în prezenţa clorurii de zinc; apare molecula organică cu structura chimică prezentată în continuare numită: 2-metil-3-fitil-1, 4-naftochinonă; se mai numeşte filochinonă:



Din categoria vitaminei K_1 fac parte şi alte filochinone, demetilate sau dehidrogenate.

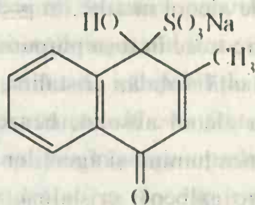
Vitamina K_2 se diferenţiază de K_1 prin substituţia restului de fitil din poziţia 3 cu doi radicali proveniţi de la farnesol, motiv pentru care se mai numeşte farnochinonă, ca fiind: 2-metil-3-difarnesil-1,4-naftochinonă; se mai numeşte menachinonă şi are următoarea structură chimică:



Din categoria vitaminei K_2 fac parte şi alţi reprezentanţi, având catena laterală din poziţia 3 formată din mai multe resturi izoprenice (7, 8 sau 9); vitamina K_2 are numai 6 astfel de resturi. Aceşti reprezentanţi sunt sintetizaţi de bacterii specifice. Se poate considera că din această grupă face parte şi ftiocolul (2-metil-3-hidroxi-1, 4-naftochinona), produs cu activitate vitaminică redusă, existent în bacilul Koch al tuberculozei (Mycobacterium tuberculosis).

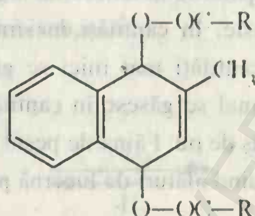
Vitamina K_3 sau menadiona are de asemenea mai mulţi derivaţi.

Prin adiţie de disulfit de sodiu apare produsul corespunzător, solubil în apă, cunoscut sub numele de vicasol (vitamină K solubilă), cu următoarea structură chimică:



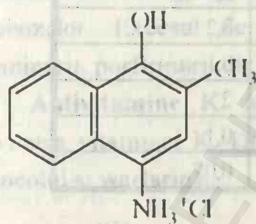
Prin această adiție, activitatea vitaminică se păstrează; se cunosc mai mulți astfel de produși.

Vitamina K_4 este un diester al menadiolului, respectiv diesterul 2-metil-1, 4-naftohidrochinonei.

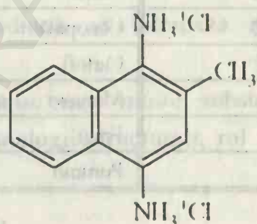


De importanță practică se bucură diacetatul, dibutiratul, disuccinatul, disulfatul și difosfatul tetrasodic.

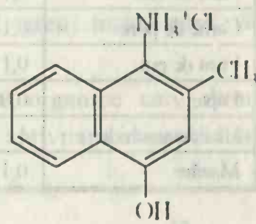
Vitamina K_5 este clorhidratul 2-metil-4-amino-1-naftolului; vitamina K_6 este diclorhidratul 2-metil-14-diamino-naftalenului, iar vitamina K_7 este clorhidratul 2-metil-1-amino-4-naftolului. Aceste vitamine sunt solubile în apă și au următoarele structuri chimice:



Vitamina K_5



Vitamina K_6



Vitamina K_7

Acești produși se obțin pe cale de sinteză. Se observă că vitaminele K_5 și K_7 sunt izomeri de poziție.

Structura de 1-4 naftochinonă este obligatorie pentru activitatea vitaminică, în timp ce catena laterală din poziția 3 poate lipsi; lungimea ei însă influențează activitatea. Prezența grupei $-CH_3$ din poziția 3 este de asemenea necesară pentru acțiunea ei biologică.

Proprietăți și răspândire. Vitamina K_1 este un ulei galben, care prin răcire cristalizează și se topește la -20°C. Este stabilă la aer, la temperatură ridicată, dar este sensibilă la lumină și în mediu alcalin se distruge. Se dizolvă în acetonă, benzen, cloroform, grăsimi lichide, animale sau vegetale. Soluțiile sale expuse la lumină își pierd

activitatea vitaminică. În soluție de alcool metilic, în prezență de hidroxid de potasiu, dă o colorație verde, care prin încălzire trece în roșu purpuriu.

Vitamina K_2 este o substanță solidă, cristalină, de culoare galben-deschis; se topește la 52°C. Este solubilă în alcool absolut, benzen, acetonă, eter, uleiuri. Ca și vitamina K_1 este sensibilă la acțiunea luminii și agenților alcalini.

Vitamina K_3 este o pulbere galbenă, cristalină, solubilă în apă și în alcool. Se topește la 106°C.

Vitaminele K sunt absorbite de către intestin numai în prezența acizilor biliari. Lipsa bilei din intestin sau leziunile intestinale duc la avitaminoză K. De la nivelul intestinului sunt preluate de limfă și pătrund în marea circulație.

Vitaminele K se găsesc răspândite în natură, în regnul vegetal, mai ales în frunzele verzi, sintetizându-se în cloroplaste. În cantități mai mari se găsesc în lucernă, trifoi, spanac, urzici, ace de brad; în cantități mai mici se găsesc în cartofi, varză, morcov, mazăre, soia, roșii. În regnul animal se găsesc în cantități mai mari în ficat de porc, în mușchi, în ficat de pui, în gălbenuș de ou. Făina de pește în putrefacție conține un procent mai ridicat în vitamină K, constituind alături de lucernă produse din care se pot extrage.

Tabelul 1.5. **Conținutul în vitamină K din unele alimente (mg/100 g produs)**

Carne de vită	0,1 0,2	Lucernă	1,5 6,2
Carne de oaie	0,1 0,2	Spanac	3 4,6
Ficat de porc	0,5 1	Roșii	0,5 0,8
Ficat de vită	0,1 0,2	Varză	2,5 3,2
Carne de porc	0,1 0,2	Conopidă	3,2
Ficat de pui	0,1 0,2	Cartofi	0,1
Lapte	0,002	Morcovi	2
Ulei de arachide	1	Fragi	0,1
Mazăre	0,15	Porumb	0,05

Este greu de stabilit necesarul zilnic pentru oameni, deoarece o parte din vitamina K apare în organism ca rezultat al biosintezei ce se produce în intestin, sub influența microflorei intestinale. Se consideră totuși că necesarul zilnic este de 1 mg menadionă, iar în cazul administrării de antibiotice sunt necesare 4 mg.

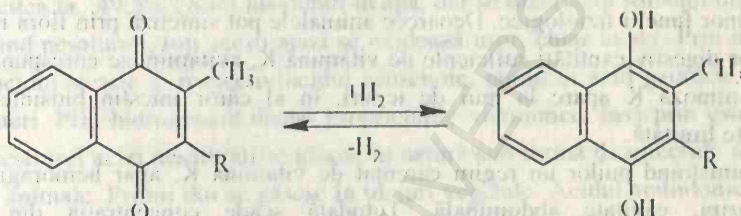
Activitatea preparatelor de vitamină K se apreciază comparativ, față de activitatea vitaminei K_1 sau față de cea a menadionei, făcând încercări pe puii de găină. O unitate de activitate reprezintă cantitatea de substanță activă necesară zilnic pentru a normaliza coagularea sângelui, într-un gram greutate corporală.

Rol în organism. S-a pus în evidență cu certitudine că lipsa din organism a vitaminei K se manifestă prin hemoragii, iar sângele coagulează greu. Coagularea sângelui constă în transformarea fibrinogenului (dizolvat în sânge) în fibrină (substanță proteică insolubilă). Acest proces depinde însă de existența mai multor factori și anume:

proconvertina, enzimă care catalizează formarea *protrombinei*, din care rezultă *trombina*, substanță proteică în prezența căreia fibrinogenul trece în fibrină.

În absența vitaminei K ficatul este incapabil de a sintetiza această enzimă numită proconvertină. Se poate spune că vitamina K este *factor proconvertinic*. Deci vitaminele K favorizează astfel formarea și apariția în sânge a protrombinei, care în prezența enzimei numită trombokinază și a cationilor Ca^{2+} va trece în trombină, iar aceasta cu fibrinogenul trece în fibrină.

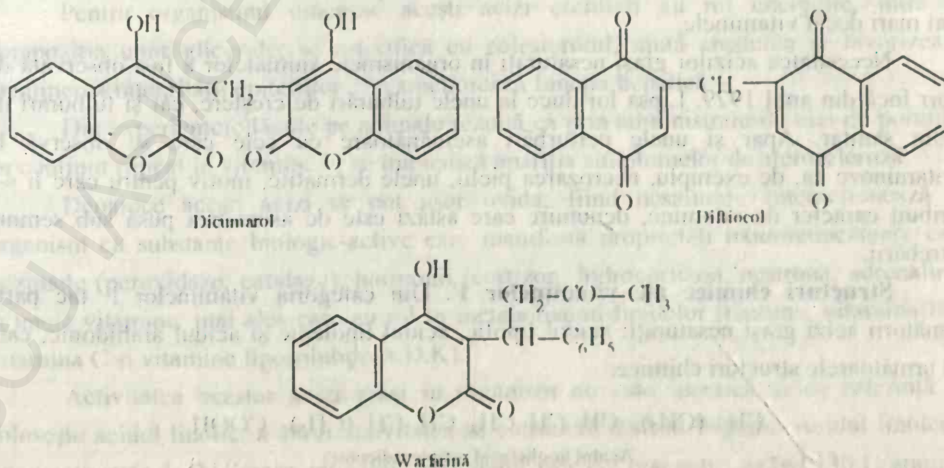
Vitamina K participă la procesul de fosforilare oxidativă ce are loc în organismul animal; de asemenea, are rol important și în procesul de fotosinteză, ceea ce se poate explica prin proprietatea ei de a se reduce, deci de a fi acceptor de hidrogen, care apare în fotoliza apei. Într-adevăr, structura de 1,4-naftochinonă are proprietatea de a interveni în procese oxidoreducătoare, conform schemei:



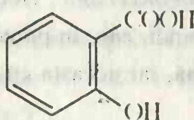
Vitamina K intervine și în unele procese metabolice ca, de exemplu, oxidarea glucozei, biosinteza colesterolului, a acizilor grași. Unele naftochinone au proprietăți antibiotice, respectiv sunt bactericide, fungicide etc.

Hipervitaminoza K apare rar; ea determină anemii hemolitice la nou-născuți și hiperbilirubinemie. Prin administrarea de cantități mari de vitamină K_1 zilnic, apare riscul trombozelor. Excesul de menadionă se tolerează mai greu încât apar vărsături albuminurii, porfirinurii etc.

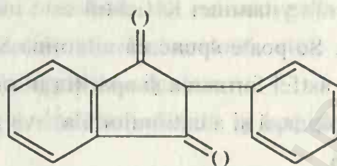
Antivitamine K. Se cunosc mai multe substanțe organice care diminuează activitatea vitaminei K. Dintre analogii structurali, rol de antivitamină au dicumarolul, diftiocolul și warfarina.



Ca antivitamine K acționează și derivații clorurați ai menadionei. Același rol îl au acidul salicilic și 2-fenilindandiona.



Acid salicilic



2-Fenilindandionă

Rolul vitaminelor K în zootehnie. Rolul principal al vitaminelor K constă în proprietatea lor de a interveni în procesul de coagulare a sângelui, proces de mare importanță și pentru organismele animalelor.

Prezența vitaminei K este necesară tuturor speciilor de animale pentru desfășurarea normală a unor funcții fiziologice. Deoarece animalele pot sintetiza prin flora microbiană din tubul lor digestiv cantități suficiente de vitamină K, avitaminoze corespunzătoare nu apar. Avitaminoză K apare la puii de iepuri, în al căror intestin biosinteza acestei vitamine este limitată.

Administrând puilor un regim carențat de vitamina K, apar hemoragii la piept, picioare, aripi, cavitate abdominală. Totodată scade concentrația din sânge a protrombinei. Aceste hemoragii se produc la câteva zile după ecloziune, respectiv la vârsta de 2-3 săptămâni. La acești pui procentul de mortalitate ajunge la 75%. Rezultă că necesarul mai ridicat în vitamina K la pui este în perioada de 2-3 săptămâni de viață.

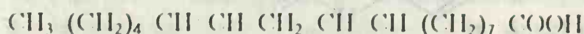
Având și proprietăți antibiotice, vitaminele K se pot folosi la conservarerea cărnii, laptelui sau a altor produse alimentare.

1.2.5. Vitamine F

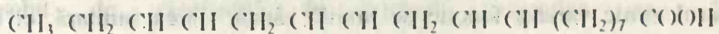
Generalități. Sub numele de vitamine F se înțeleg o serie de acizi grași nesaturați, care nu pot fi sintetizați de organism și care trebuie introduși în mod obligatoriu o dată cu hrana. După unele păreri este mai corect să fie considerați acizi grași „esențiali" și nu vitamine. Acești acizi îndeplinesc și rol plastico-energetic, încât sunt necesari în cantități mai mari decât vitaminele.

Necesitatea acizilor grași nesaturați în organismele animalelor a fost observată de Burr încă din anul 1929. Lipsa lor duce la unele tulburări de creștere, cât și tulburări de ordin sanitar. Apar și unele perturbări asemănătoare cu cele care se observă în avitaminoze ca, de exemplu, necrozarea pielii, unele dermatite, motiv pentru care li s-a atribuit caracter de vitamine, denumire care astăzi este de asemenea pusă sub semnul întrebării.

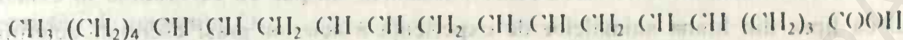
Structuri chimice ale vitaminelor F. Din categoria vitaminelor F fac parte următorii acizi grași nesaturați: acidul linolic, acidul linolenic și acidul arahidonic, care au următoarele structuri chimice:



Acidul linolic(acid octodecadienoic)



Acidul linolenic (acid octodecatrienoic)



Primii doi au câte 18 atomi de carbon în moleculă, iar ultimul, acidul arahidonic, are 20.

Acidul linolic şi acidul linolenic pot să rezulte prin dehidrogenare enzimatică a acidului oleic.

Proprietăţi şi răspândire. Acizii linolic, linolenic şi arahidonic sunt substanţe lichide la temperatura obişnuită şi incolore. Se pot obţine şi în stare cristalină. Primul se topeşte la -5,8°C şi fierbe la 149,5°C. Cel de al doilea are punctul de topire la -11°C, iar cel de al treilea la -49,5°C. Sunt insolubili în apă, dar se dizolvă în solvenţi organici şi în grăsimi. Fiind nesaturaţi, toţi aceşti acizi se oxidează uşor, chiar în aer. Prin hidrogenare formează acidul stearic şi respectiv acidul ecosenoic, numit şi acid gadoleic. Formează săruri şi esteri. Prin hidrogenare dispar proprietăţile vitaminice, însă prin esterificare se menţin. Aceşti trei acizi nesaturaţi se găsesc în natură sub formă de gliceride în ţesuturile vegetale şi animale. Primii doi se găsesc în uleiuri vegetale. Acidul arahidonic se găseşte în lipidele complexe din organismele animale, mai ales în fosfatide.

În cantităţi mai importante se găsesc în uleiul de in, de arahide, în germene de grâu şi în uleiul de germene de porumb, care este şi cel mai bogat. În cantităţi mai mici se găsesc în unt, lapte de vacă şi lapte de femeie.

Rol în organism. Lipsa vitaminei F din organism duce la încetarea creşterii, leziuni renale, perturbarea funcţiei ovariene, degenerarea testiculelor, perturbarea metabolismului lipidic; apare o hipercheratoză a epiteliilor şi scade rezistenţa la infecţii. La şobolanii carenţaţi în vitamină F apare tulburarea reproducerii şi lactaţiei. Li se inflamează pielea, le cade părul şi apar fenomene de diaree, uremie etc.

La om, acidul linolic influenţează creşterea, dar nu duce la simptome cutanate. Acidul linolenic şi arahidonic stimulează creşterea şi opresc apariţia unor dermatite.

Pentru organismul omenesc aceşti acizi esenţiali au rol energetic, intră în compoziţia unor gliceride, se esterifică cu colesterolul, ajută creşterea şi favorizează menţinerea integrităţii epiteliilor. Se ameliorează funcţia hepatică.

Din experienţele făcute pe animale rezultă că prin administrare de ulei de porumb, cu conţinut ridicat în vitamine F, se împiedică apariţia simptomelor de ateroscleroză.

Deoarece aceşti acizi se pot uşor oxida, fiind nesaturaţi, interacţionează în organism cu substanţe biologic-active care manifestă proprietăţi oxidoreducătoare ca : enzimele (peroxidaze, catalaze), hormonii (cortizon, hidrocortizon, oestrona, adrenalina) şi unele vitamine, mai ales care au rol în metabolismul lipidelor (tiamina, vitamina B_{12}, vitamina C şi vitamine liposolubile A,D,K).

Activitatea acestor acizi graşi în organism nu este identică şi ca referinţă se foloseşte acidul linolic, a cărui activitatea se consideră de 100 U/gram. Acidul linolenic are o activitate de 9 U/gram, iar acidul arahidonic este cel mai activ, având 130 U/gram.

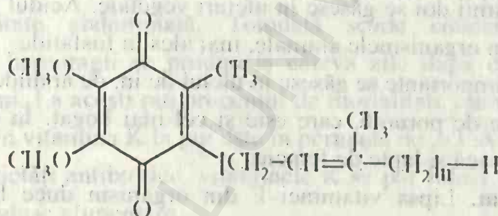
Necesarul zilnic variază funcție de hrană, vârstă, starea sanitară, el trebuind să reprezinte 1% din necesitatea calorică globală (sub formă de acid arahidonic).

Rolul vitaminelor F în zootehnie. Cercetările au pus cu certitudine în evidență faptul că lipsa din hrana animalelor de experiență a acizilor grași esențiali determină încetarea creșterii, perturbarea procesului de reproducție, apariția unor leziuni la nivelul rinichilor, perturbarea metabolismului lipidic și altele. Dacă se administrează o hrană carențată în vitamina F, timp mai îndelungat, apare moartea.

În avitaminoză F apare la femele o ovulație neregulată, uneori dispare, iar gestația este prelungită. În timpul fătării apar hemoragii și o proporție mare din pui se nasc cu greutatea mai mică decât cea normală, iar mortalitatea în rândul lor este ridicată.

1.2.6. Ubichinone

Se cunosc mai multe substanțe organice în a căror moleculă se află un nucleu de *p*-benzochinonă și mai multe resturi laterale care alcătuiesc categoria ubichinonelor sau coenzimele Q. Deoarece ubichinonele au structură chimică asemănătoare cu vitaminele K și îndeplinesc rol similar coenzimelor flavinice, pot fi considerate că au proprietăți vitaminice. Ubichinonele corespund următoarei structuri chimice:



În această structură restul de izopren se poate repeta de 6 până la 10 ori.

Ubichinonele sunt substanțe liposolubile (așa precum se poate deduce și din structura lor chimică) care sunt răspândite în regnul vegetal și animal. În cantitate mai mare se găsesc în mitocondrii.

Denumirea de coenzime Q a fost dată de R.A. Morton (1958), Q provenind de la cuvântul Quinone.

Existența grupărilor carbonilice în componența moleculei conferă proprietatea ubichinonelor de a exista atât sub formă oxidată, cât și redusă și în consecință ele pot funcționa ca transportor de protoni și electroni, deci pot lua parte la procese de oxidoreducere. În stare oxidată manifestă proprietăți antioxidante.

S-a stabilit că ubichinona izolată din drojdie, numită ubichinona 30 sau CoQ_6, are 6 resturi de izopren în catena laterală.

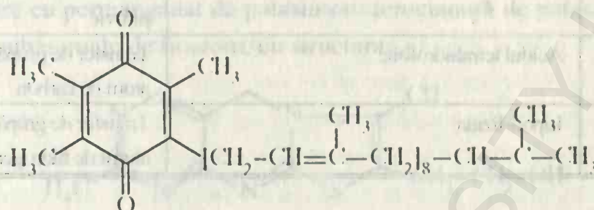
Din mitocondrii provenite din inima bovinelor s-a izolat coenzima Q_{10} (1958), fiind obținută și în stare cristalină (1962). Coenzima Q_{10} se topește la 49,5...50°C, iar coenzima Q_9 se topește la 43...44°C.

Din frunzele de *alfalfa* s-a obținut în stare cristalină o altă coenzimă Q, cu structură de 2,5,6-trimetil-3-(izoprenil)$_9$-*p*-benzochinonă care se topește la 42...43°C.

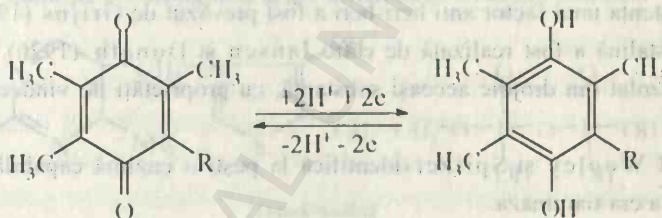
Deosebit de răspândită în frunzele plantelor este 5,6-dimetil-3-(izoprenil)$_9$-*p*-benzochinona, care se topeşte la 48...49°C.

Toate aceste substanţe cu structuri de *p*-benzochinonă tri- şi tetra-substituite au proprietăţi de coenzime Q.

O altă ubichinonă a fost izolată din plastidele celulelor vegetale, numită coenzima Q_{254} sau plastochinonă (are absorţia maximă la 254 nm), cu următoarea structură chimică:



Participarea ubichinonelor la procesele de oxidoreducere implicate în lanţul respirator se explică prin proprietatea nucleului chinonic de a primi hidrogen, reducându-se şi invers (transportă hidrogen de la flavinenzime la citocromi), conform schemei:



1.3. Vitamine hidrosolubile

Structurile chimice ale vitaminelor hidrosolubile explică în mod convingător proprietatea lor comună, aceea de a fi solubile în apă. Într-adevăr, în structura fiecărei molecule există una sau mai multe grupări polare, hidrofile, scheletul molecular neprezentând asemănări. În organism,vitaminele hidrosolubile au roluri diferite. Cele mai multe dintre ele au rol de coezime şi în consecinţă participă în procesele metabolice intermediare. În tabelul următor se prezintă vitaminele hidrosolubile şi participarea lor la procesele biocatalitice, în calitate de coenzime.

Vitamine hidrosolubile cu rol de coenzime

Vitamina	Coenzima sau forma activă	Procesul catalizat
Tiamina	Tiaminpirofosfatul (TPP)	Decarboxilare
Riboflavina	Flavinmononucleotidul (FMN) Flavinadenidnucleotidul (FAD)	Transfer de hidrogen şi electroni

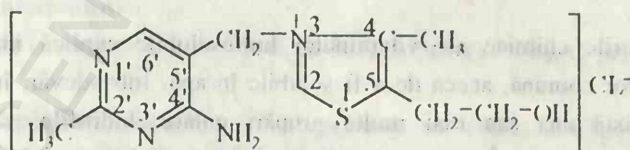
Vitamina PP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidul (NAD) Nicotinamid-adenin-dinucleotid fosfatul (NADP)	Transfer de hidrogen şi electroni
Vitamina H	Biocitina	Transfer de grupări carboxil
Vitamina B_6	Piridoxal-fosfatul	Transfer de grupări amine
Vitamina B_{12}	Coenzima B_{12}	Transfer de atomi de hidrogen
Acidul pantotenic	Coenzima A (CoA)	Transfer de grupări acil Intervine şi în metabolismul acidului piruvic
Acidul folic	Acidul tetrahidrofolic	Transfer de grupări cu un singur atom de carbon
Acidul lipoic	Lipoil-lizina	Transfer de grupări acil şi transfer de atomi de hidrogen.

1.3.1. Vitamina B_1

Generalităţi. Vitamina B_1 se mai numeşte tiamină, aneurină, vitamină anti beri-beri sau vitamina antinevritică. Cercetări întreprinse de Funk (1911) asupra coajei de orez au dus la izolarea unei substanţe impure, cu caracter bazic, care vindecă boala beri-beri. Existenţa unui factor anti beri-beri a fost prevăzut de Grijns (1901). Obţinerea sub formă cristalină a fost realizată de către Jansen şi Donath (1926). În anul 1932, Windaus a izolat din drojdie aceeaşi substanţă, cu proprietăţi de vindecare a maladiei beri-beri.

În 1941 Wooley şi Spitzer identifică la peşti o enzimă capabilă să inactiveze tionina; aceasta era tiaminaza.

Structura chimică a vitaminei B_1. În anul 1938, Williams şi Spies au determinat structura chimică a vitaminei B_1, în a cărei moleculă se găseşte un nucleu de pirimidină şi unul de tiazol, unite printr-o grupare metilenică:



3-(4'-amino-2'metil-5'-pirimidinil-metil)-5-(β-hidroxi-etil)-4-metiltiazol.

Structura chimică a fost dovedită pe cale sintetică, dar şi prin degradare chimică. Frecvent ea se obţine sub formă de clorhidrat.

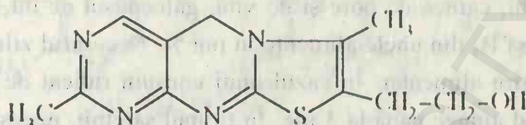
Sinteza vitaminei B_1 a fost realizată prin mai multe metode şi în mod independent de către mai mulţi cercetători: Wiliams, Grewe, Andersag, Westphal şi Todt-Bergel.

Cercetările efectuate de către Lohman şi Schuster (1937) au dus la concluzia că această vitamină se găseşte depozitată în celule animale sub formă de ester pirofosforic şi ea nu există în stare liberă în organismul animal.

Proprietăți și răspândire. Vitamina B_1 se prezintă sub forme de cristale aciculare, incolore, având punctul de topire 248...250°C. Se dizolvă în apă, se dizolvă mai greu în alcool etilic și metilic. Este insolubilă în cloroform, acetonă, eter, benzen. Are gust relativ acru și miros caracteristic. Este higroscopică și optic inactivă.

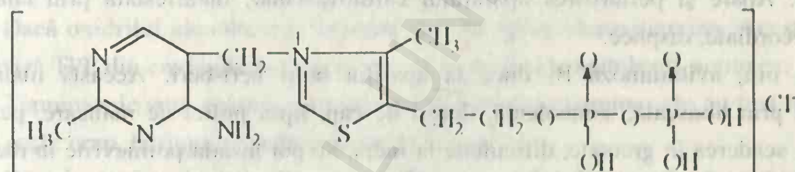
În mediu slab acid este relativ stabilă, la temperaturi ridicate. Se comportă bine la acțiunea oxidanților. În mediu alcalin este ușor descompusă termic. Este distrusă de razele ultraviolete. La fierberea alimentelor vitamina B_1 se distruge parțial.

Prin oxidare cu permanganat de potasiu sau ferocianură de potasiu, se formează un produs cunoscut sub numele de tiocrom, cu structura:



Vitamina B_1 se poate esterifica cu acidul fosforic; prin esterificare cu o singură moleculă de acid fosforic se obține tiaminmonofosfatul (TMP), iar cu două molecule se formează tiamindifosfatul (TDP) sau tiaminpirofosfatul (TPP), cu punctul de topire la 242...244°C. Cu trei molecule de acid fosforic formează tiamintrifosfatul (TTP).

TDP se numește cocarboxilază și are următoarea structură chimică:



Difosfotiamină

Vitamina B_1 este absorbită de mucoasa intestinului subțire, după ce mai întâi se esterifică cu acidul fosforic. Se depune în ficat, apoi în rinichi, creier, mușchiul cardiac, testicule. În stare liberă se găsește în sânge. Excesul din organism se elimină prin urină.

Tabelul 1.6. **Conținutul în vitamina B_1 din unele alimente (mg/100 g)**

Făină integrală de grâu	0,33-0,57	Ciuperci	0,10-0,30
Făină de secară	0,30-0,43	Carne de oaie	0,15-0,30
Făină de porumb	0,48-0,50	Carne de vită	0,05-0,15
Cartofi	0,05-0,18	Ficat de vită	0,26-0,9
Fasole	0,15-0,50	Carne de vițel	0,07-0,18
Mazăre	0,28-0,8	Ficat de vițel	0,50-0,52
Linte	0,22-0,56	Carne de porc	0,40-0,82
Morcovi	0,002-0,14	Rinichi de porc	0,70
Tomate	0,06-0,12	Lapte de vacă	0,05-0,08
Varză	0,05-0,25	Unt	0,03-0,05
Spanac	0,07-0,25	Ouă	0,07-0,32

Tabelul 1.6. (continuare)

Caise	0,04-0,17	Gălbenuş de ou	0,3-0,48
Prune	0,06-0,15	Nuci, alune	0,3-0,5
Orez	0,3-0,4	Drojdie de bere	0,2-0,3
Soia	0,3-1,2	Bere	3-18 mg/l

Tiamina se găseşte în regnul animal şi vegetal. Surse mai bogate sunt tărâţele de orez, germenele de grâu şi drojdia. Dintre produsele animale, mai bogate în vitamina B_1 sunt: ficatul, rinichiul, carnea de porc şi de vită, gălbenuşul de ou. În tabelul 1.6. se dă conţinutul în vitamină B_1 din unele alimente în mg %. Necesarul zilnic variază funcţie de vârstă, muncă şi regim alimentar. În cazul unui consum ridicat de glucide este necesar 1 mg tiamină, putând ajunge până la 3 mg. În timpul sarcinii, necesarul zilnic creşte. De asemenea, consumul de alcool creşte necesarul de tiamină. Flora intestinală acoperă o parte din necesităţile organismului în vitamină B_1.

Unitatea internaţională corespunde la 3,33 mg clorhidrat de tiamină.

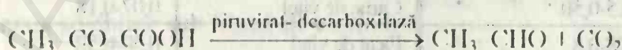
Rol în organism. Lipsa vitaminei B_1 din organism determină dereglări ale sistemului nervos, astenie, polinevrite, fiind deosebit de caracteristică apariţia nevritei periferice. Apare şi perturbarea aparatului cardiovascular, manifestată prin tahicardie, dureri precordiale, dispnee.

La om, avitaminoza B_1 duce la apariţia bolii beri-beri. Această maladie se manifestă prin oboseală, somnolenţă, dureri de cap, lipsa poftei de mâncare, perturbări digestive, scăderea în greutate, dificultate la mers. Se pot instala polinevrite în membrele inferioare (se inflamează trunchiurile nervoase, apare o senzaţie de greutate în picioare, înţepături, ameţeală şi în cazuri grave apare paralizia). Este perturbat şi metabolismul glucidic; apare acumularea de acid piruvic în sânge, deci nu are loc decarboxilarea lui. Prin administrarea de tiamină, toate aceste perturbări dispar.

Activitatea metabolică a tiaminei se exercită sub forma ei de ester TPP; acţiune metabolică manifestă şi TMP şi TTP, dar mai scăzută.

Cel mai important rol al tiaminei îl reprezintă participarea ei în componenţă cocarboxilazei, care funcţionează drept coenzimă în reacţiile enzimatice, ce apar în catabolismul glucidelor, când este necesară şi prezenţa ionilor Mg^{2+}.

O astfel de reacţie este decarboxilarea simplă a cetoacizilor; ea se petrece în plante şi în drojdie; în cazul acidului piruvic se poate reda prin următorul mecanism:



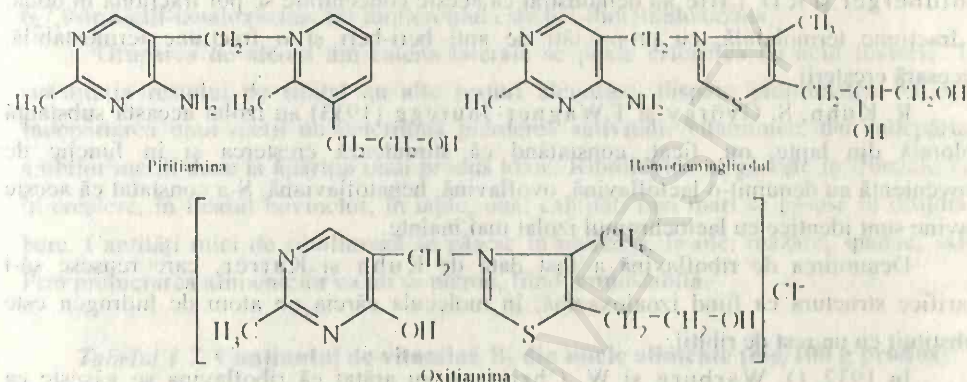
$$CH_3\text{-}CO\text{-}COOH \xrightarrow{\text{piruvirat-decarboxilază}} CH_3\text{-}CHO + CO_2$$

În ţesuturile animale şi la microorganisme are loc decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic, rezultând acid acetic şi dioxid de carbon; procesul este catalizat de mai multe enzime specifice.

Este de subliniat și faptul că în organism vitamina B_1 prezintă interacțiuni cu alte vitamine (A, B_6, PP, B_{12}, C) și cu glanda hipofiză, care în avitaminoză B_1 regresează.

Hipervitaminoză tiaminică la om nu apare. Dacă însă este introdusă în cantități mai mari decât maximul necesar, apar stări de leșin, tahicardie etc. La animale apar unele intoxicații.

Antivitamine B_1. Se cunosc mai multe substanțe cu acțiune antitiaminică, care sunt omologi structurali (piritiamina sau piridintiamina, oxitiamina, cloroxitiamina, hemotiaminglicolul) sau care sunt heterologi structurali (tiaminaze, compuși flavonici).



Dacă oxidrilul alcoolic este înlocuit cu clor apare cloroxitiamina. Acești compuși deplasează TPP din enzimele în care se găsesc normal și le anihilează acțiunea.

Tiaminazele sunt enzime care scindează hidrolitic tiamina; ele au fost identificate la unii pești: crap, heringi, păstrăv și la unele crustacee.

Din plante, i-au izolat unii compuși flavonici și fenolici, cu două grupe fenolice în *orto*, care pot inactiva tiamina. Acțiunea lor este încă neexplicată.

Rolul vitaminei B_1 în zootehnie. Importanța tiaminei se explică ușor, ținând seama de proprietatea ei de a interveni în metabolismul glucidelor, cât și prin acțiunea ce o reprezintă asupra sistemului nervos.

Avitaminoza B_1 la animale duce la pierderea coordonării mulsculare, apar mișcări spastice, retracția capului (simptom caracteristic porumbeilor și altor păsări).

Hrana carențată în tiamină determnină la păsări apariția bolii numită polinevrită aviară; aceasta se manifestă prin nesiguranță în mers, paralizia picioarelor, aripilor (acestea cad de pe spate), spasme musculare, crize convulsive etc. La porumbei se perturbă metabolismul glucidelor din globulele roșii și este perturbată activitatea unor enzime.

Insuficiența tiaminei din hrană duce la pierderea apetitului, scăderea în greutate; apare un aspect neplăcut al penajului. La porci apare de asemenea scăderea apetitului, a greutății corpului, apar vomă și simptome nervoase. Vierii de reproducție se resimt mult în lipsa vitaminei B_1. Avitaminoza B_1 influențează, în general, nefavorabil capacitatea de reproducție a animalelor.

Prin administrarea de tiamină în hrană, simptomele carenței dispar.

1.3.2. Vitamina B_2

Generalități. Vitamina B_2 este cunoscută și sub numele de riboflavină sau lactoflavină. Ea a fost izolată prima dată din lapte (1879) de Blyth, Beyer și Kallmann ca o substanță colorată în galben (lactochromul) fără să i se cunoască proprietățile vitaminice.

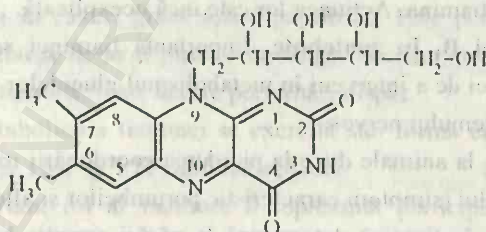
Cercetări efectuate asupra concentratelor obținute din coaja de orez au dus la postularea existenței mai multor componente vitaminice (Jansen, Donath 1926), iar J. Goldberger și R.D. Lilie au demonstrat că aceste concentrate se pot fracționa în două: o fracțiune termolabilă, cu proprietăți de anti beri-beri și o fracțiune termostabilă, necesară creșterii.

R. Kuhn, S. György și T.Wagner-Jauregg (1933) au izolat această substanță colorată din lapte, ou, ficat, constatând că stimulează creșterea și în funcție de proveniență au denumit-o lactoflavină, ovoflavină, hepatoflaviană. S-a constatat că aceste flavine sunt identice cu lactochromul izolat mai înainte.

Denumirea de riboflavină a fost dată de Kuhn și Karrer, care reușesc să-i clarifice structura ca fiind izoaloxazină, în molecula căreia un atom de hidrogen este substituit cu un rest de ribitil.

În 1932, O. Warburg și W. Christian au arătat că riboflavina se găsește ca grupare prostetică în componența "fermentului galben".

Structura chimică a vitaminei B_2. Structura chimică a vitaminei B_2 a fost stabilită atât prin reacții de degradare chimică cât și pe cale sintetică. Cercetările lui Kuhn, Rudy, Wagner-Jauregg (1933) au dus la concluzia că, din punct de vedere chimic, riboflavina corespunde substanței: 6,7-dimetil-9-D-ribitil-izoaloxazină:



Sinteza acestei substanțe a realizat-o Karrer, Kuhn și Weugand (1934), iar Theorell a arătat că esterul fosforic al riboflavinei constituie gruparea activă din fermentul galben.

Se cunosc mai multe posibilități de sinteză a riboflavinei; ea se obține și pe cale de biosinteză în prezența unor drojdii.

Proprietăți și răspândire. Vitamina B_2 este o substanță cristalină, de culoare galben-orange, optic activă, cu gust amar. Punctul ei de topire este cuprins între 271 și 293°C, fiind o substanță polimorfă; cristalizată sub formă de ace fine, se topește la 290°C, iar sub formă de plăcuțe are două puncte de topire în jur de 280°C. Prin topire se descompune. Este ușor solubilă în mediul alcalin, acid acetic, piridină, alcool amilic, greu

solubilă în apă şi insolubilă în alcool, cloroform, eter, benzen, acetonă. Soluţia apoasă are fluorescenţă verzuie.

Faţă de oxidanţii mai slabi (ca apa de brom, apa oxigenată) este stabilă, dar faţă de oxidanţii puternici (acid cromic, permanganat, persulfaţi) se descompune. În prezenţa reducătorilor trece în dihidro-riboflavină incoloră (leucoderivat), dar se poate reoxida uşor; prezintă deci proprietăţi oxidoreducătoare.

Prin iradiere în mediu slab alcalin, pierde restul de ribitil, rezultând lumiflavina, iar în soluţie neutră sau acidă apare lumicromul. Lumiflavina este 6,7,9-trimetil-izoaloxazina, iar lumicromul este 6,7-dimetilaloxazina.

Gruparea de alcool din catena laterală se poate esterifica cu acid fosforic. Prin substituţia restului de ribital cu alte resturi alcoolice, dispare proprietatea biologică. Îndepărtarea unui metil nu determină pierderea activităţii vitaminice, dar îndepărtarea ambilor metili duce la apariţia unui produs toxic. Riboflavina se găseşte în frunzele verzi în creştere, în ficatul bovinelor, în lapte, ouă; cantităţi mai mari se găsesc în drojdia de bere. Cantităţi mici de riboflavină se găsesc în morcovi, fasole, mazare, spanac, salată. Prin prelucrarea alimentelor ea nu se pierde, fiind termostabilă.

Tabelul 1.7. **Conţinutul de vitamină B_2 din unele alimente (mg/100 g produs)**

Făină de grâu	0,20	Porumb	0,05-0,14
Făină de secară	0,10-0,30	Ceapă	0,05-0,1
Germene de grâu	0,30-1	prune	0,1
Orz	0,085	Căpşune	0,1
Lucernă	0,7-1,7	Cireşe	0,05-0,06
Caise	0,057	Lapte	0,02-0,3
Suc portocale	0,13-0,18	Iaurt	0,11-0,26
Varză	0,05-0,1	Brânză	0,33-0,56
Ceapă	0,02-0,05	Ouă	0,27-0,35
Morcovi	0,06-0,14	Carne de porc	0,09-0,35
Roşii	0,04-0,23	Carne de vită	0,04-0,35
Mazăre	0,01-0,28	Carne de viţel	0,28-0,33
Drojdie de brutărie	2-4	Ficat de porc	2,9-4,4
Drojdie de bere	1,8-3	Ficat de vită	2,8-3,4
Soia	0,3-0,7	Ficat de berbec	4,3
Linte	0,2-0,3	Rinichi	1,0-2,0
Orez	0,2	Cafea	0,8-0,9
Pâine de grâu	0,1-0,15	Ficat de peşte	0,3-0,5

În stare liberă se găseşte în retină şi în produse de secreţie (lapte, urină). Esterificată cu acidul fosforic la gruparea alcoolică primară formează flavinmononucleotidul (FMN) (denumire improprie); intră şi în compoziţia

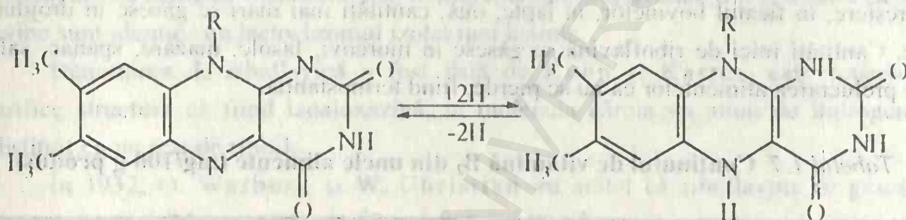
flavinadenindinucleotidului (FAD). Riboflavina este fosforilată în mucoasa intestinală, formă sub care este absorbită.

Rol în organism. În avitaminoză B_2 încetează creșterea, cade părul, la om apar conjuctivite și infecții, se vascularizează corneea, apare fotofobie, se inflamează limba și buzele. Stimulează secreția de acid clorhidric de către mucoasa gastrică.

Un rol important are riboflavina în procesele metabolice, ce se petrec în celule, atât la om, cât și la mamifere și păsări.

Sub formă de FMN sau FAD se găsește ca grupare prostetică a flavinenzimelor. Aceste enzime intervin în procesul respirator, în procese de oxidoreducere, în dezaminarea oxidării aminoacizilor, în procesul de formare a hormonilor tiroidieni etc.

În structura flavinenzimelor, FAD este legat de o proteină. Proprietatea de a funcționa ca sistem redox se explică prin capacitatea nucleului de izoaloxazină de a accepta doi atomi de hidrogen în pozițiile 1 și 10, care prin oxidare sunt donați:



Această proprietate apare la nucleul de izoaloxazină, atât în FMN cât și în FAD, care sub formă redusă se prezintă ca $FMNH_2$ și $FADH_2$. Formele oxidate ale flavinenzimelor sunt colorate în galben, roșu sau verde, iar formele reduse sunt decolorate, ele fiind leucoderivați. Compușii flavinici participă la aceste reacții, când sunt excitați de către lumina vizibilă, de anumite lungimi de undă (445 mm). FMN are o activitate oxidativă mai mare în stare excitată decât riboflavina excitată, ceea ce duce la interpretarea că restul de acid fosforic favorizează trecerea structurii de izoaloxazină în aloxazină.

Necesarul zilnic de vitamină B_2 este de 1,6 3 mg. Nu se cunosc cazuri de hipervitaminoză B_2.

Antivitamine B_2. Riboflavina are mulți antagoniști care sunt analogi sau heterologi structurali. Prin modificarea chimică a structurii moleculei de riboflavină, introducând atomi de halogeni sau radicali organici, apar analogi structurali care inhibă acțiunea vitaminei B. Dintre aceștia fac parte: halogenflavine, dietilflavine și galactoflavina. Exemple concrete sunt: diclor-lactoflavina, în care cele două grupe metil din pozițiile 6 și 7 sunt înlocuite cu atomi de clor; galactolactoflavina rezultată prin înlocuirea restului de ribitol cu galactoză.

Dintre antagoniștii heterologi structurali fac parte atebrina, unele tetracicline, talidomida.

Se cunosc însă și câțiva analogi structurali sintetici care au activitate vitaminică. Moleculele acestora trebuie să conțină intact nucleul de izoaloxazină, să aibă un rest de

pentaol în poziția 9, să se păstreze gruparea iminică din poziția 3 și grupele metilice din pozițiile 6 și 7.

Rolul vitaminei B_2 în zootehnie. Ca și în organismul omenesc și în organismul mamiferelor și al păsărilor, riboflavina participă în componența multor enzime de importanță metabolică deosebită.

Lipsa riboflavinei din hrana animalelor tinere duce la încetarea creșterii. Apare și căderea părului, însoțită de dermatite pe acele zone. Vitamina B_2 joacă rol important în procesul vederii la animale; în lipsa ei apare ca sindrom caracteristic conjuctivita și apoi apar ulcerații. Apare keratoconjuctivita infecțioasă a bovinelor.

Carența în vitamina B_2 provoacă o stare de anemie la porci și la câini. Lipsa ei din hrană se manifestă și prin tulburări digestive, tulburări nervoase și oculare. La porci, aceste tulburări sunt deosebit de periculoase, ele putând duce la paralizii, convulsii și chiar la moartea animalelor. Mortalitatea în rândul porcilor născuți de scroafe carențate în vitamină B_2 este mărită.

Găinile carențate în vitamina B_2 manifestă leziuni ale nervilor periferici, tulburări de mers și o scădere a producției de ouă; la pui apar încetarea creșterii, leziuni nervoase, greutatea în mers și paralizia picioarelor.

Lipsa vitaminei B_2 tulbură procesul de reproducție a animalelor; în mod deosebit de grav este perturbată reproducția și lactația la scroafe. Avitaminoza B apare și la taurine.

1.3.3. Vitamina B_6

Generalități. Această vitamină este cunoscută sub numele de adermină sau piridoxină, reprezentată prin mai multe substanțe organice cu nucleu de piridină, pe care sunt grefate diferite grupări de atomi.

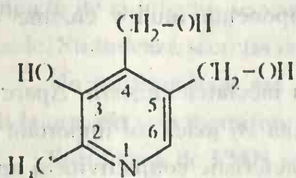
Tratând șobolani cu o dietă în care era exclus complexul de vitamine B, la care se adaugă vitamina B_1 și B_2, P. György (1934) a observat că aceștia cresc mai greu și le apare o dermatită simetrică la urechi, labe și în jurul botului. Se consideră că o astfel de dietă favorizează apariția pelagrei. Continuând cercetările (1935-1937) s-a ajuns la diferențierea vitaminei B_6 față de factorul preventiv al pelagrei; s-a stabilit pe cale experimentală și cu certitudine existența separată a vitaminei B_6 în complexul vitaminelor B.

În 1938, s-a obținut în stare cristalină de către mai mulți carecetători și independent unii de alții (Lepkovaky, Kerestesy, Görgy, Kuhn, Ichiba).

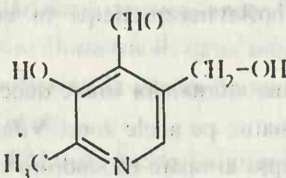
Structura chimică a vitaminei B_6. Structura chimică a vitaminei B_6 a fost fundamentată în 1939 de către Harris și colaboratorii și în mod separat de către Kuhn și colaboratorii; acești cercetători au demonstrat că vitamina B_6 este un derivat de piridină, care răspunde structurii de 3-hidroxi-4,5-dihidroximetil-2-metil-piridină, numită apoi piridoxină.

Denumirea de piridoxină pentru vitamina B_6 a fost dată de György și Eckhart (1939) și acceptată oficial și în prezent pentru toți derivații pridinici cu acțiune de vitamină B_6.

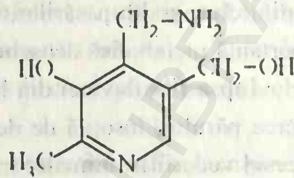
Studiind extracte din drojdia de bere și din coaja de orez, E. Snell (1942-1944) ajunge la concluzia că în complexul vitaminei B_6 există piridoxina, piridoxalul și piridoxamina, cu următoarele structuri chimice:



Piridoxină sau piridoxol



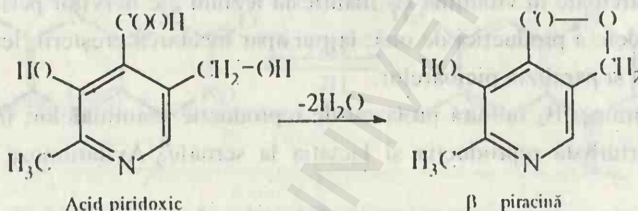
Piridoxal



Piridoxamină

Piridoxalul și piridoxamina rezultă în organism prin transformarea biologică a piridoxinei.

Prin oxidarea piridoxalului rezultă acidul 4-piridoxic, compus izolat din urină. Lactona acidului piridoxic se numește β-piramicină:



Acid piridoxic β piracină

Este de subliniat importanța grupării oximetil din poziția 5 care se esterifică în organism cu acidul fosforic, formă sub care vitamina B_6 participă la sistemele enzimatice. Substituția hidrogenului fenolic cu metil și substituția hidrogenului alcoolic din poziția 4 cu metil duc la pierderea activității biologice.

Proprietăți și răspândire. Piridoxina este o substanță cristalină, incoloră, cu gust amărui, care se topește la 159...160°C. Sub formă de bază liberă se dizolvă ușor în apă, acetonă, alcool și mai greu în eter sau cloroform.

Clorhidratul piridoxinei (piridoxol) este un produs cristalin, incolor, fără miros, cu punct de topire ceva mai mare de 25°C. Se dizolvă ușor în apă, mai greu în alcool sau în acetonă.

În soluții neutre sau alcaline și în prezența luminii, piridoxina se degradează ușor; în soluție de acid clorhidric 0,1 n este stabilă (Hochberth 1944).

Piridoxamina este o substanță cristalină incoloră și se topește la 193°C. La lumină, piridoxamina se descompune mai ușor decât piridoxina.

Piridoxalul, sub formă de clorhidrat, se prezintă sub formă de cristale rombice, incolore, care se topesc la 165°C. În prezența luminii se descompune chiar în soluții acide. În soluții alcaline și la temperatură ridicată, se descompune repede.

Vitamina B_6 se poate obține pe cale sintetică, dar și pe cale biosintetică.

Această vitamină se găsește în regnul vegetal și animal, însoțind alte vitamine din complexul B. Se găsește în drojdia de bere, coajă de orez, grâu, porumb, ficat, pește, lapte, gălbenuș de ou.

Prin prelucrarea alimentelor, vitamina B_6 se distruge în cantități apreciabile.

Tabelul 1.8. **Conținutul în vitamină B_6 din unele produse alimentare (mg/100 g produs)**

Pâine integrală	4,2	Carne de vită	0,8-4
Pâine albă	0,7-2,0	Ficat de vită	0,4-11
Făină de porumb	2-5,7	Carne de porc	1,2-6,8
Morcov	0,38-1,22	Ficat de porc	1,7-10,2
Cartofi	0,9-2,2	Ficat de pui	0,63
Orez	0,15-0,45	Lapte	0,05-2
Portocale	0,05	Brânză	0,6-8,0
Soia	7,1-12	Pește	10,0
Ciuperci	0,9-3,2	Scrumbie	3,5-5,1
Suc de lămâie	0,35	Gălbenuș de ou	3,6
Suc de portocale	0,2-0,6	Drojdie de brutărie	6,2-7,0
Mere	0,25-0,55	Drojdie de bere	5,7-24,2
Salată	0,2-0,3	Unt	0,15
Roșii	0,2-0,3		

În natură, vitamina B_6 se găsește în cea mai mare parte legată de proteine sau de amidon.

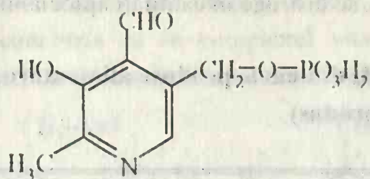
Rol în organism. Într-un regim alimentar obișnuit, avitaminoza B_6 nu apare la om; acesta se explică și prin posibilitatea enterosintezei.

În cazul unei diete lipsite de vitamină B_6 apar la om leziuni cutanate, mai ales în jurul nasului și al ochilor. De asemenea, în cazul folosirii hidrazidei acidului izonicotinic HIM (un medicament antituberculos cu proprietăți de antivitamină B_6) pot să apară stări de hipovitaminoză B_6 caracterizată prin amorțeala extremităților, accidente nervoase, o oarecare anemie, slăbirea mușchilor și perturbarea metabolismului proteic și glucidic.

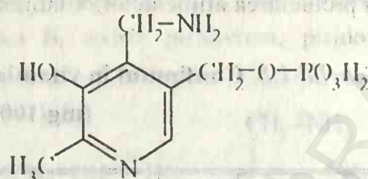
Sugarii hrăniți cu lapte praf (acesta în timpul prelucrării pierde o parte din pirodixină) manifestă tulburări nervoase, anemii, apariția în urină a unei cantități mai ridicate de acid xanturenic, de albumină, perturbarea metabolismului triptofanului etc.

La șobolanii carențați în vitamina B_6 se observă încetinirea creșterii și apariția unei dermatite specifice, numită acrodinie, instalată la nivelul nasului, urechilor și al cozii. Apar tulburări metabolice și tulburarea funcției glandelor sexuale și a hipofizei.

În organism, forma activă a vitaminei B_6 este piridoxal-fosfatul care acționează drept coenzimă. Fosforilarea piridoxalului are loc în ficat sub acțiunea ATP-ului, ca donator de grupări $-PO_3H_2$ și a unei kinaze specifice, unde toate formele vitaminei B_6 sunt fosforilate și apoi transformate în piridoxal-fosfat.



Piridoxal-fosfat



Piridoxamin-fosfat

Piridoxal-fosfatul participă în calitate de coenzimă în componența transaminazelor, triptofanazelor, racemazelor.

Braustein și Snell explică acțiunea de coenzimă a piridoxal-fosfatului prin proprietatea grupării aldehidice de a se condensa cu grupele $-NH_2$ din componența aminoacizilor, formând *baze Schiff*. În aceste structuri, acizii aminici devin mai reactivi, datorită scăderii densității electronice pe carbonul α și deplasării fluxului de electroni a sistemului conjugat spre atomul de azot piridinic. Se înțelege că activitatea enzimatică a piridoxal-fosfatului se manifestă numai când este legat în structura enzimei.

Piridoxal-fosfatul joacă rol de coenzimă și în fosforilaze, hidroximetiltransferaze.

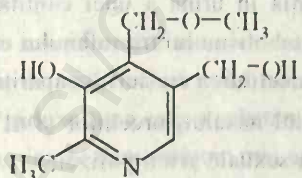
Deosebit de important este rolul de coenzimă a piridoxal-fosfatului în componența decarboxilazelor, care ajută transformarea unor aminoacizi în produși cu activitate biologică. Dintre aceștia fac parte: ornitina, lizina, acidul glutamic, treonina, histidina, triptofanul, tirozina, acidul glutamic, cisteina ș.a.

În metabolismul lipidelor, vitamina B_6 intervine atât în transformarea acidului linolenic în arahidonic, cât și în depozitarea lipidelor. Piridoxal-fosfatul intervine în metabolismul glucidelor prin fosforilaze care favorizează scindarea glicogenului în glucoză-1-fosfat. Concomitent, intervine în menținerea normală a glicemiei.

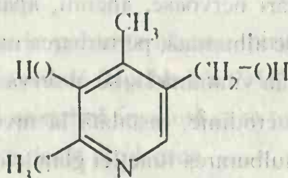
Vitamina B_6 are rol foarte important în sinteza hemoglobinei. Absorția vitaminei B_6 în organism are loc la nivelul tractusului gastrointestinal.

Se apreciază că necesarul zilnic în vitamină B_6 este de 1,5-2 mg.

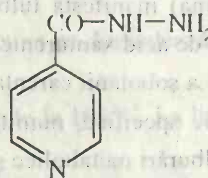
Antivitamine B_6. Se cunosc mulți analogi structurali ai vitaminei B_6 cu acțiune opusă acesteia, de exemplu: 4-metoxipiridoxina, dezoxipiridoxina, hidrazida acidului izonicotonic, derivați de pirinidină etc.



Metoxipiridoxină



Dezoxipiridoxină



HIN

Se consideră că inactivitatea piridoxal-fosfatului de către HIN se explică prin formarea unei *baze Schiff* între gruparea aldehidică și gruparea $-NH_2$ din molecula HIN-ului, formând o hidrazonă substituită.

Prin blocarea grupării aldehidice de piridoxal-fosfat cu alte substanțe ca hidrazina, semicarbazide, hidroxilamina etc., se obțin inhibatori ai vitaminei B_6.

Din categoria heterologilor stucturali antivitaminici face parte penicilina care determină eliminarea piridoxinei din organism.

Rolul vitaminei B_6 în zootehnie. Prezența vitaminei B_6 în alimentația animalelor este foarte necesară. Lipsa ei duce la: întârzierea creșterii animalelor, apariția anemiei, convulsii epileptiforme, acrodinie (dermatite specifice), căderea parțială a părului (alopecie). La porcine, carența în vitamina B_6 duce la apariția unei anemii pronunțate, prin încetinirea regenerării eritrocitelor. Concomitent se produce scăderea poftei de mâncare, încetarea creșterii, degenerarea nervilor senzoriali periferici. Și la câini apar tulburări nervoase, creșterea volumului unor organe (inimă, rinichi, tiroidă, suprarenale).

Lipsa vitaminei B_6 din hrana păsărilor duce la încetinirea creșterii, convulsii, tulburări degenerative nervoase. În rândul puilor carențați în piridoxină mortalitatea este crescută. Producția de ouă a păsărilor carențate în piridoxină este mai scăzută.

Pentru ierbivore tinere, porci, câini, vitamina B_6 este un factor dietetic. La rumegătoare această vitamină este sintetizată în stomac de către unele microorganisme, iar la cabaline este sintetizată în prima parte a intestinului gros.

Vitamina B_6 este necesară pentru obținerea proteinelor cu valoare biologică și nutritivă ridicată, stimulând creșterea animalelor, a producției de carne, ouă, lapte. Lipsa ei în hrana animalelor poate fi suplinită de pirodixină obținută pe cale de sinteză.

1.3.4. Vitamina PP

Generalități. Vitamina PP sau factorul pelagro-preventiv este cunoscut sub mai multe denumiri: acid nicotinic și amida acidului nicotinic (nicotinamida), cât și niacină și niacinamidă. În lipsa vitaminei PP din organismul omenesc apare pelagra, motiv pentru care această vitamină se mai numește și antipelagroasă.

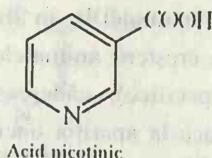
Pelagra este o boală cunoscută de multă vreme, fiind citată de către medicii chinezi încă la începutul mileniului II și descrisă pentru prima dată de G. Cassal (1730). Denumirea de pelagră (pella-agra piele aspră) a fost dată de Fr. Frappoli (1771); această boală apare la persoane ce se hrănesc cu mult porumb. Cercetări întreprinse de Goldberger și colaboratorii (1912-1915) au pus în evidență faptul că pelagra apare datorită lipsei din alimentație a factorului pelagro-preventiv. Funk presupunea că pelagra se datorește absenței unei "vitamine" din porumb (1912). Boala apare și la câini și se manifestă prin culoarea neagră-albăstruie a limbii (limbă neagră), tulburări ale sistemului nervos, degenerescență grasă a ficatului.

Osborne și Mendel considerau că lipsa de triptofan, cisteină și zeină ar cauza apariția pelagrei.

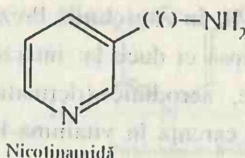
Cercetări întreprinse de C.A. Elvehjem (1936) pun în evidență faptul că în constituția factorului pelagro-preventiv există acid nicotinic și amida sa. Mai târziu s-a constatat că aceste substanțe pot fi înlocuite de triptofan. Krehl și Elvehjem au pus în evidență (1945) importanța triptofanului ca precursor în sinteza acidului nicotinic la mamifere, fundamentându-se rolul porumbului în apariția pelagrei.

Structura chimică a vitaminei PP. Din punct de vedere chimic, vitamina antipelagroasă este derivat de piridină. Acidul nicotinic sau niacina este acidul

piridin-3-carboxilic (piridin-β-carboxilic), iar nicotinamida sau niacinamida este amida sa, având următoarele structuri chimice:



Acid nicotinic



Nicotinamidă

Aceşti compuşi se obţin şi sintetic. Este de menţionat faptul că acidul nicotinic a fost obţinut sintetic de către Hubert (1867), fără ca el să cunoască şi proprietăţile vitaminice ale acestui produs.

Dacă gruparea carboxilică din poziţia 3 a nucleului de piridină este substituită cu $-CH_3$ sau $-NH_2$, apar compuşi organici fără activitate biologică. Prezenţa celor trei duble legături este necesară pentru activitatea vitaminică; prin hidrogenare această activitate dispare. Se pot introduce însă unii radicali în molecula acidului nicotinic, când apar produşi ce manifestă acţiune biologică.

H. von Euler a izolat din drojdie (1933) un produs numit coenzima I, iar Warburg şi Christian au izolat o altă coenzimă pe care au numit-o coenzima II (1934-1936), găsind ulterior că în compoziţia ambelor coenzime există nicotinamidă.

Proprietăţi şi răspândire. Acidul nicotinic este o substanţă cristalină, incoloră şi inodoră, cu gust acru, ce se topeşte la 234...237°C. Este greu solubilă în apă şi alcool la rece, la cald însă solubilitatea creşte; se dizolvă greu în benzen şi cloroform şi este insolubilă în eter şi acetonă. Este stabilă la cald şi la acţiunea agenţilor oxidanţi.

Nicotinamida se prezintă sub formă cristalină, este incoloră, are gust amar şi se topeşte la 129...131°C. Se dizolvă uşor în apă, alcool, acetonă, cloroform, dar se dizolvă greu în benzen şi eter. În soluţie poate fi încălzită la 120°C, fără distrugere. Prezintă cea mai mare stabilitate dintre vitamine (în condiţii normale). În mediu acid sau alcalin hidrolizează rezultând acidul nicotinic.

În natură, vitamina PP se găseşte în carne, peşte, rinichi, ficat, inimă şi în produse vegetale ca tărâţe, germene de grâu, cartofi, mazăre, arahide, drojdii. Nu se găseşte în porumb, slănină, iar în lapte se găseşte în cantitate mică. În general, alimentele vegetale sunt sărace în vitamină PP. Prin fierberea alimentelor vitamina PP nu se distruge.

Tabelul 1.9. **Conţinutul în acid nicotinic din câteva alimente (mg/100 g produs)**

Făină de grâu albă	0,9-1,2	Unt	0,1
Făină de grâu integrală	3,1-5,7	Brânză	0,03-1,6
Orez nedecorticat	6,0	Gălbenuş de ou	1,0
Orz decorticat	1,6-3,2	Carne de vită	3,8-10,2
Porumb galben	1,2-3,0	Carne de porc	3,3-13
Mazăre	1,0-2,7	Carne de viţel	4,9-18
Fasole	2,1-2,5	Carne de găină	6,1-18

Tabelul 1.9. (continuare)

Soia	1,2-4,8	Rinichi de vițel	8,3-10
Cartofi	1,0-3,0	Ficat de porc	9,7-27,5
Morcov	0,5-1,5	Ficat de vițel	11,5-22,5
Salată	0,2-0,7	Extract de carne	34,5-102,5
Varză	4,5	Gălbenuș de ou	1,0
Struguri	0,6-1,8	Bere	0,45-2,7
Cafea	9,5-26	Vin	0,6-0,9 mg/100 ml

În celule și țesuturi, nicotinamida se găsește în componența codehidrazelor, respectiv coenzima I care este nicotinamid-adenin-dinicleotidului (NAD) și coenzima II care este nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfatul (NADP). NAD se mai numește și difosfo-piridin-nucleotid (DPN), iar NADP se mai numește trifosfopiridin-nucleotid (TPN).

Vitamina antipelagroasă se consideră că face parte din grupul vitaminelor B.

Rol în organism. În lipsa vitaminei PP din organismul omenesc apare mai întâi oboseală, slăbiciune generală, tulburări în tractusul gastrointestinal (indigestie, diaree), apoi apar dermatite pelagroase și tulburări nervoase mintale (demență). Practic apare sindromul celor trei D (dermatită, diaree, demență), caracteristic lipsei vitaminei PP din alimentație.

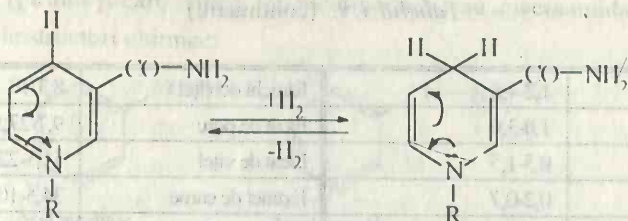
Pelagra apare la persoane care consumă mult porumb (mai ales alterat), datorită lipsei triptofanului din proteinele ce se găsesc în porumb (triptofanul fiind un precursor al vitaminei PP).

Dermatitele pelagroase apar pe mâini, nas, frunte, genunchi, coate, glezne; prin expunere la soare aceste leziuni se amplifică.

Avitaminoza PP s-a identificat cu certitudine și la câini, prin apariția bolii numită "limbă neagră" sau pelagra canină. Maladia se manifestă prin leziuni ale pielii, limba devine neagră-albăstruie, apar și perturbări nervoase. Prin administrare de nicotină aceste simptome dispar.

Pelagra poate să apară și datorită incapacității organusmului de a transforma triptofanul în nicotinamidă. Ea este în primul rând rezultatul lipsei acidului nicotinic, dar în realitate pelagra se consideră a fi consecința lipsei a mai multor vitamine.

Vitamina PP are rol important în metabolismul glucidelor și în mod deosebit în procesul de oxidare a glucozei, prin intermediul coenzimelor NAD și NADP, care se găsesc în constituția multor enzime ce catalizează procese de oxidoreducere. Proprietățile catalitice în aceste cazuri se explică prin proprietatea nucleului piridinic din nicotinamidă, care poate să îmbrace forma oxidantă sau redusă, după cum pierde sau câștigă hidrogen. Procesul se poate schematiza în modul următor:



Hidrogenul poate fi preluat de la un substrat, acesta oxidându-se, sau invers, el putând fi cedat unui substrat, care astfel se reduce.

NAD și NADP sunt coenzime ce se găsesc în componența multor enzime (dehidrogenaze) care catalizează multe procese metabolice, de exemplu dehidrogenaze care intervin în metabolismul glucidelor (glucozo-6-fosfat -dehidrogenaza), în ciclul Krebs (izocitrat-dehidrogenaza), în metabolismul proteinelor (alanin-dehidrogenaza) etc. precum și în componența unor reductaze și oxidaze.

Este de subliniat faptul că acidul nicotinic singur are efect vasodilatator.

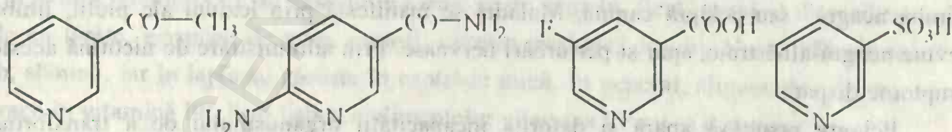
Necesarul zilnic pentru un bărbat este de 10-18 mg, pentru o femeie 10-15 mg, iar pentru copii 4-17 mg. Vitamina PP este absorbită la nivelul intestinului și transportată în organism prin sânge.

În lipsă de vitamină PP, organismul omenesc poate folosi această substanță sintetizată de flora intestinală.

În tratamente mai intense cu vitamină PP, pot apărea cazuri de hipervitaminoză, când se perturbă biosinteza colinei (ca rezultat al hiperconsumului de grupe metilice), manifestată prin tulburări respiratorii, digestive, nervoase etc.

Există multe corelații între vitamina PP și alte vitamine.

Antivitamine PP. Se cunosc mai mulți analogi structurali cu proprietăți de antivitamine PP. Cei mai cunoscuți sunt: 3-acetil-piridina, 6-amino-nicotinamida, acidul 5-fluoro-nicotinic, HIN, acidul piridin-3-sulfonic și alții:



Unii dintre acești compuși au proprietatea de a înlocui nicotinamida din componența NAD și NADP, rezultând coenzime false, fără activitate biologică. Acidul piridin-3 sulfonic, în unele cazuri, joacă rol de antivitamină, alteori însă acționeaă ca vitamină.

Rolul vitaminei PP în zootehnie. Avitaminoza PP apare și la animale, cauzată în primul rând de o alimentație necorespunzătoare, care constă mai ales în porumb alterat. Ea se manifestă la păsări, porcine, bovine, afară de câini.

Apariția avitaminozei PP la animale se explică prin aceea că o parte din acidul nicotinic din porumb se găsește legat (sub forma unui complex inactiv „niacitină") și nu

poate fi utilizat în procesele biochimice caracteristice. Probabil că în porumb există și unele antivitamine naturale.

La animale, lipsa vitaminei PP se manifestă prin scăderea productivității acestora, respectiv scăderea cantității de carne, lapte, ouă, cât și prin perturbarea procesului de reproducție și scurtarea duratei de viață. Deosebit de sensibili sunt porci la o alimentație cu porumb alterat.

Cercetările au pus în evidență faptul că o alimentație săracă, cu proteine incomplete (ca cele din porumb sau din melasă), cu valoare biologică scăzută, lipsesc organismul animal de triptofan, care este un precursor al vitaminei PP; în același timp sunt introduși în organism și alți acizi aminici esențiali, necesari în biosinteza unor enzime.

Este necesară controlarea hranei animalelor și dacă este cazul să fie suplimentată cu vitamină PP, produsă pe cale de sinteză.

1.3.5. Vitamina H

Generalități. Vitamina H este cunoscută și sub numele de biotină sau factorul „bios II B".

În anul 1901, s-a observat că un extract din carne de vită sau din ficat are acțiune stimulatoare asupra dezvoltării unor microorganisme și bacterii; acestui complex i s-a dat numele de „bios".

Ulterior, s-a izolat din acest complex un „bios I" care s-a dovedit a fi mezoinozitolul, un „bios II A", identificat cu acidul pantotenic și un „bios II B", căruia i s-a dat numele de biotină.

Descoperirea biotinei în componența complexului „bios II" a fost făcută de F. Kögl (1934), iar mai târziu Kögl și B. Tonnis (1936) o izolează și din gălbenuș de ou.

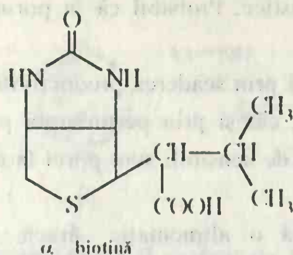
Cercetările lui Kögl și du Vigneaud (1940-1942) asupra extractelor din ficat și din gălbenușul de ou au dus la izolarea a două forme: α -biotina existentă în gălbenușul de ou și β-biotină existentă în ficat.

Gzent Gyorgy (1937) a observat că biotina vindecă dermatita produsă de consumul de albuș de ou crud și i-a dat numele de vitamina H (Haut piele), iar mai târziu (1940), concomitent cu alți cercetători, a arătat că vitamina H este identică cu biotina.

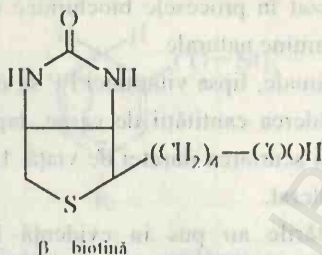
Structura chimică a vitaminei H. Structura chimică a vitaminei H a fost determinată de către D. B. Melville și colaboratorii (1942), ceea ce a favorizat obținerea ei pe cale sintetică.

Confirmarea structurii chimice a biotimei a fost făcută de W. Traub (1956) prin analize röntgenografice, stabilind că aceasta are o configurație *cis*.

Molecula biotinei este formată dintr-un hetrociclu hidroimidazolic, condensat cu un hetrociclu hidrotiofenic, de aceasta fiind legată o catenă laterală de acid valerianic.



α biotină



β biotină

Înlocuirea atomului de sulf cu un atom de oxigen duce la substanța numită oxibiotină, care are activitate de circa 30% pentru drojdii și numai 5% pentru animale.

În molecula biotinei există trei atomi de carbon asimetrici, deci există opt izomeri optic-activi și respectiv patru amestecuri racemice.

Proprietăți și răspândire. Biotina este un produs solid care se prezintă sub formă de cristale aciculare, incolore, ce se topesc la 232...233°C. Se dizolvă relativ greu în apă rece și în alcool, este însă mai ușor solubilă în apă caldă și în soluții alcaline diluate. Nu se dizolvă în solvenți organici. În stare cristalină este stabilă atât în aer, cât și în prezența căldurii; prezintă stabilitate și în soluții acide, dar este mai puțin stabilă în soluții alcaline.

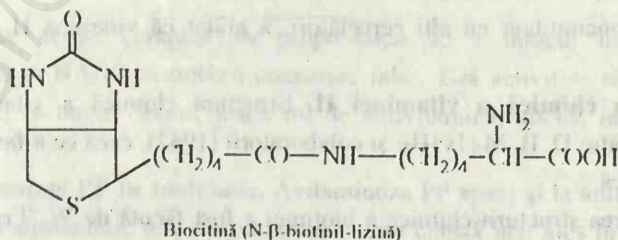
Esterul său metilic, formă sub care se folosește în practica medicală biotina, este un produs solid, se topește la 166...167°C, se dizolvă în unii solvenți organici (acetonă, alcool, cloroform), dar este insolubil în apă și eter. Se hidrolizează ușor în mediu acid sau alcalin, eliberând biotina.

Având atomi de carbon asimetrici, biotina prezintă activitate optică; în soluție diluată de hidroxid de sodiu (0,1 n) are activitate optică dextrogiră: α +92°.

În natură biotina se găsește liberă sau combinată, în diferite produse de natură vegetală și animală. În cantități mai mari se găsește în ficatul și rinichiul mamiferelor; se mai găsește în mușchi, ouă, brânză. În produsele vegetale în cantități mai mari se găsește în fructe și zarzavaturi proaspete; în cereale și nuci practic nu există.

În timpul pregătirii alimentelor prin fierbere se pierde circa 20% din biotină.

În natură se găsește uneori legată de proteine, sau sub formă de compuși peptidici, dintre care mai cunoscută este biocitina, formată din β-biotină și lizină având următoarea structură chimică:



Biocitină (N-β-biotinil-lizină)

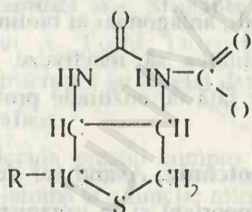
Biocitina a fost izolată din drojdii și manifestă proprietăți biologice asemănătoare cu ale biotinei (uneori are activitate mai mare decât biotina, alteori este inactivă). Sub acțiunea unor bacterii și a enzimei numită biotinolază (existentă în mușchi, ficat, plasmă),

biocitina este scindată hidrolitic în biotină și lizină. Hidroliza biocitinei reușește și în mediu de acid clorhidric 3 n, încălzită la 120°C, timp de 60 minute.

Rol în organism. Avitaminoza H se manifestă la om prin oboseală, lipsa poftei de mâncare, căderea părului, descuamări ale pielii, perturbări care dispar prin administrare de biotină. Astfel de tulburări apar în cazul în care se consumă, timp mai îndelungat, albuș de ou crud. Biotina se combină ușor cu o proteină numită avidină (existentă în albușul de ou) și se formează complexul biotin-avidină, care rezistă la acțiunea enzimelor proteolitice din tubul digestiv. Este deci inhibată absorția biotinei; astfel avidina este o antibiotină. Avidina se distruge la încălzire.

Rolul biochimic important al biotinei constă în favorizarea proceselor de carboxilare a diferitelor molecule acceptoare de dioxid de carbon. Procesul care are loc este un proces enzimatic; aceste enzime au în componența coenzimei, ca parte catalitică activă, biotina.

În reacțiile de carboxilare, dioxidul de carbon este "activat", fiind fixat mai întâi de biotină, rezultând N-carboxibiotina, cu structura chimică prezentată în continuare:



Legarea dioxidului de carbon are loc și prin interacțiunea biotinei cu ionul HCO_3^-.

Se înțelege că, în molecula enzimei, biotina este lgată prin intermediul lizinei de restul proteic macromolecular, care alcătuiește apoenzima.

De pe molecula biotinei, dioxidul de carbon este ușor transferat unui substrat, care se va carboxila; acest proces necesită și prezența unor cationi: Mg^{2+}; Mn^{2+}. Sub formă generală, procesul carboxilării se poate reda prin schema:





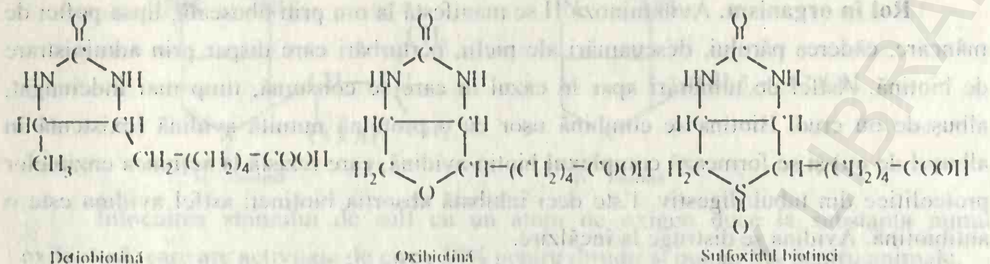
Enzimele biotinice sunt carboxilaze, ca de exemplu piruvat-carboxilaza, acetil-CoA-carboxilaza, propionil-CoA-Carboxilaza etc.

Proprietatea enzimelor biotinice de a cataliza procese de carboxilare și de decarboxilare implică biotina în multe reacții biochimice, cum sunt: biosinteze de acizi grași, colesterol, aminoacizi, baze purinice și pirimidinice, acizi nucleici. Biotina este implicată în formarea proteinelor tisulare, metabolismul glucidelor, a triptofanului. Se cere subliniată interacțiunea biotinei în organism cu alte substanțe biologic-active, ca de exemplu vitamina B_{12}, acidul folic, unii hormoni.

Avitaminoza H, la om, apare rar, aspect explicabil prin proprietatea florei intestinale de a sintetiza biotină. Se apreciază necesarul zilnic pentru om de 150-200 mg.

Administrarea unei cantități mari de biotină determină depuneri de cantități mari de grăsimi și mai ales de colesterol în ficat.

Avitamine H. Se cunosc mai mulți analogi ai biotinei cu rol antivitaminic, ca de exemplu: detiobiotina, oxibiotina, sulfoxidul biotinei, homobiotina și alții.



Detiobiotină | Oxibiotină | Sulfoxidul biotinei

Detiobiotina, față de unele microorganisme, are activitate vitaminică ca și biotina, dar acționează opus biotinei în alte microorganisme. Oxibiotina are activitate mult mai slabă decât a biotinei (circa 25% din activitatea acesteia). Sulfoxidul biotinei este un antagonist al biotinei, pentru unele microorganisme.

De la oxibiotină rezultă de asemenea antagoniști puternici, analogi structurali ai biotinei, ca acidul oxibiotinsulfonic, tiolul corespunzător și alții.

Dintre heterologii structurali, antagoniști ai biotinei, cel mai cunoscut este avidina. Un mol de avidină are posibilitatea să inactiveze 3 moli de biotină. Complexul biotin-avidină prezintă stabilitate față de enzimele protolitice, încât legarea biotinei de avidină este ireversibilă.

Rolul vitaminei H în zootehnie. Având rol de coenzimă implicată în procese metabolice, biotina are un rol important și în organismul animalelor. Lipsa biotinei la animal poate să apară mai ales în cazul administrării de antibiotice care, distrugând flora intestinală, oprește și generarea biotinei.

În avitaminoză H se observă la animale oprirea creșterii, dermatite, seboree, căderea părului și chiar paralizii. În carență prelungită pot să apară tulburări endocrine, tulburări ale procesului de osificare și tulburări neuromusculare.

Avitaminoza H apare mai ușor la păsări, caracterizată prin dermatite. La câini apare paralizia progresivă și apoi moartea.

La bovine tinere avitaminoza H duce la perturbări în coordonarea mișcărilor și paraplegie. La purcei carența biotinică se manifestă prin leziuni ale pielii. Avitaminoza H determină la păsări scăderea procentului de ecloziune.

La rumegătoare lipsa biotinei nu apare, deoarece prezența ei este asigurată prin biosinteza intestinală.

1.3.6. Vitamina B_{12}

Generalități. În anul 1856, Biermer a descoperit boala numită anemie pernicioasă, ce se manifestă prin apariția megalocitelor (celule roșii foarte mari). În 1926, G. R. Minot și W. P. Murphy au observat că ficatul crud, consumat în cantități mari, vindecă anemia pernicioasă.

Cercetările în vederea obţinerii unor progrese, privind cunoaşterea proprietăţilor şi a structurii chimice a vitaminei B_{12}, erau dificile, deoarece anemia pernicioasă apare numai la oameni.

Observaţia conform căreia *Lactobacillus lactis* reclamă prezenţa vitaminei B_{12} ca factor indispensabil de creştere a favorizat mult cercetările.

Astfel, prin cercetări laborioase efectuate în Anglia (E.Lester Smith) şi în America (E.Rickes şi K.Folkers), s-a reuşit izolarea din ficat, în stare cristalină (1948), a factorului antipernicios, numit de aceşti cercetători vitamina B_{12}. Acest produs dădea rezultate foarte bune în tratarea bolnavilor de anemie pernicioasă.

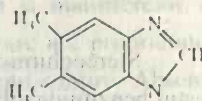
O dată cu izolarea vitaminei B_{12} din ficat, ea s-a obţinut în stare cristalină din mediile de cultură necesare dezvoltării unor microorganisme ca *Streptomyces griseus* sau *Streptomyces aureofaciens*. Aceste observaţii au favorizat obţinerea vitaminei B_{12} pe cale industrială.

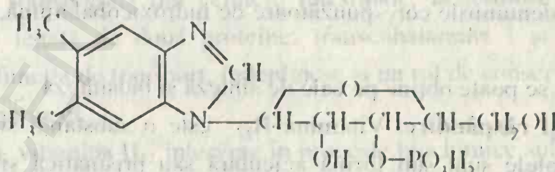
În prezent această vitamină se obţine în industrie ca un subprodus în procesul de fabricaţie a streptomicinei, aureomicinei etc.

Structura chimică a vitaminei B_{12}. Structura chimică a vitaminei B_{12} a fost fundamentată prin cercetările lui A. Todd, Dorothy, Crowfoot-Hodkin şi alţii (1955). Pentru stabilirea acestei structuri s-au corelat datele obţinute prin hidroliza acidă a vitaminei B_{12}, cu cele röntgenografice.

S-a demonstrat că în molecula acestui compus există un atom de cobalt, motiv pentru care ea se numeşte şi cobalamină şi o funcţie nitril legată de atomul metalic.

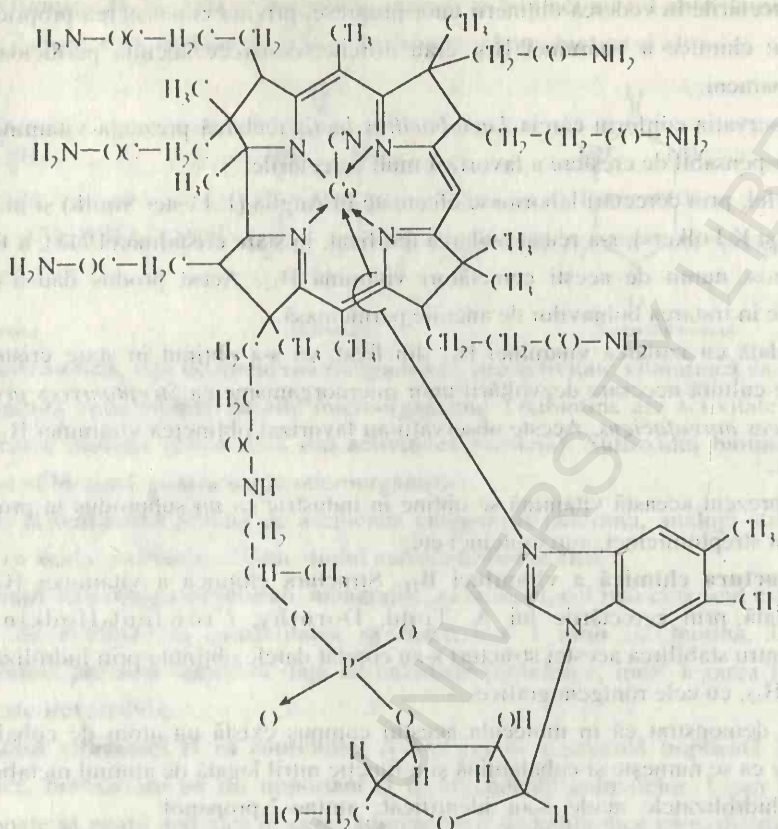
În hidrolizatele acide s-au identificat: amino-2-propanol: $H_2N\ CH_2\ CHOH\ CH_3$; amoniac; 5-6-dimetilbenzimidazolul şi ribozol (1-ribofurnozido-5,6-dimetilimidazol) de care este foarte stabil legat acidul fosforic (esterificat):





S-a stabilit că în molecula vitaminei B_{12} există un macrociclu tetrapirolic (numit corină), care se deosebeşte de macrociclul porfirinic prin lipsa unei grupări metinice, încât două nuclee pirolice sunt legate direct între ele. De nucleele tetrapirolice se găsesc legaţi radicali metil, resturi de acetamidă şi propionamidă. Atomul de cobalt este legat coordinativ şi covalent de atomii de azot pirolic, iar ribozolul este legat coordinativ de cobalt.

Pentru ciancobalamină s-a propus următoarea structură chimică:



Stereochimic, gruparea -CN este de o parte a planului ce conține ciclul corinic, iar restul benzimidazolului de partea opusă.

După cum de atomul de cobalt în loc de -CN se găsesc legate alte resturi (-OH; NH_2; $-NO_2$) apar și denumirile corespunzătoare de hidroxicobalamină, aminocobalamină, nitrocobalamină.

Vitamina B_{12} se poate obține pe cale de sinteză și biosinteză.

Proprietăți și răspândire. Vitamina B_{12} este o substanță solidă, cristalină, de culoare roșie. Cristalele sunt sub formă aciculară sau prismatică și aparțin sistemului romboedric. Se topește între 210 și 220°C și se descompune la peste 300°C. Este solubilă în apă, metanol, etanol și fenol; nu se dizolvă în benzen, cloroform, eter, acetonă. Prezintă activitate optică levogiră.

Vitamina B_{12} este stabilă în soluție apoasă (mai ales la întuneric și temperaturi scăzute). Se descompune ușor în soluții slab alcaline sau slab acide; este instabilă la încălzire, în prezența agenților oxidanți sau reducători.

În structura sa, atomul de cobalt este deosebit de stabil. Soluțiile de vitamină B_{12} pură, încălzite în autoclavă, timp de 20 minute la 120°C, își păstrează activitatea; prin reducerea purității scade și rezistența la încălzire în autoclavă.

Tabelul 1.10. **Conținutul în vitamina B_{12} în unele alimente (mg/100 g produs)**

Lapte de vacă	0,3-1,2	Ficat de porc	20-180
Ouă	5-10	Ficat de vită	30-150
Gălbenuș de ou	10-40	Rinichi de vită	20-32
Lapte de oaie	0,14	Heringi	9-11
Brânză	20	Stridii	20-280
Rădăcini de lucernă	0,31	Făină de pește	0,016

În natură, vitamina B_{12} se găsește în cantitate mai mare în produse de origine animală decât în cele de origine vegetală. Se găsește în ficat, rinichi, creier, carne, ouă, lapte, pește; se mai găsește în alge marine și în arahide.

Rol în organism. Vitamina B_{12} îndeplinește multiple roluri în organismele vii. Ajută creșterea unor microorganisme, a copiilor și a animalelor vertebrate. În avitaminoză B_{12}, diviziunea celulară nu se face în mod normal, mai ales în măduva osoasă; crește numărul trombocitelor în sânge și scade numărul eritrocitelor (apare anemia pernicioasă). Apar și tulburări neurologice.

Avitaminoza B_{12} este corelată cu lipsa acidului folic.

Vitamina B_{12} participă și la reacții metabolice ale proteinelor, glucidelor și lipidelor.

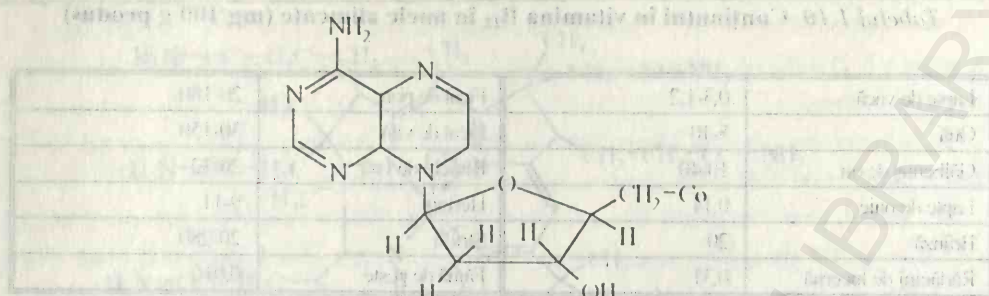
Faptul că bolnavii de anemie pernicioasă elimină prin fecale multă vitamină B_{12} duce la interprtarea că aceasta nu este „legată" în intestin.

Cercetările au pus în evidență faptul că în stomacul omului și mamiferelor se sintetizează și se secretă o glucoproteidă numită „factor intrinsec", care are proprietatea de a se lega cu vitamina B_{12}, favorizând absorbția acesteia în intestinul subțire. Absența factorului intrinsec duce la avitaminoza B_{12}.

Pentru a fi transportată din celulele intestinale, la țesuturi și celule periferice, vitamina B_{12} este legată de două proteine: transcobalamina I și transcobalamina II. Acestea, pe lângă funcția de transport, îndeplinesc și un rol de conservare a vitaminei B_{12}, împiedicând eliminarea ei.

În organism, vitamina B_{12} intervine în procesle biochimice sub forma de coenzimă B_{12}.

În componența enzimelor, vitamina B_{12} se leagă prin punți de hidrogen, ce se stabilesc între macrociclul de corină și diferite structuri proteice sau polipeptidice. În același timp, funcția de coenzimă B_{12} este îndeplinită de ciancobalamină modificată, în sensul că în locul grupării -CN se leagă direct de atomul de cobalt un adeninnucleozid, mai frecvent 5'-dezoxiadenozina:

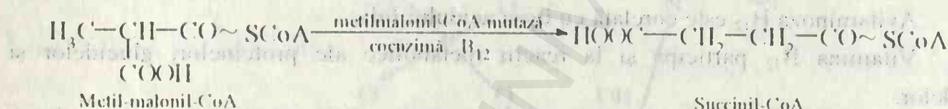


Coenzima B_{12} se numește, deci, 5'-dezoxiadenozilcobalamina.

Trecerea vitaminei B_{12} în conzima sa reclamă prezența FAD, NADH, ATP și glutationului; această transformare este complicată.

Coenzima B_{12} catalizează reacții care constau în deplasarea unui atom de carbon din poziția 2 în poziția 1 și concomitent trecerea din poziția 1 în 2 a unei grupe -OH, -NH_2, -R sau -COOH.

De exemplu, trecerea acidului metil-malonic în acid succinic se poate schematiza astfel:



În altă categorie de reacții, coenzima B_{12} are legată de atomul de cobalt o grupare metil, în loc de 5'-dezoxiadenozil; în acest caz coenzima B_{12} se numește metilcobalamină. Această coenzimă are proprietatea de a acționa ca transportor al grupei -CH_3 la un acceptor. În acest sens, trebuie menționată trecerea homocistinei în metionină.

Vitamina B_{12} contribuie atât la activarea aminoacizilor și legarea lor de proteine, cât și la metabolismul acizilor nucleici.

Necesarul zilnic de vitamină B_{12} este dificil de stabilit; el depinde de vârstă și de starea biologică a organismului. Pe de altă parte, vitamina B_{12} pătrunde în organism o dată cu unele alimente de proveniență animală și apare și prin biosinteză intestinală. Se apreciază că o cantitate de 2-30 μg ar fi suficientă.

Antivitamine B_{12}. Se cunosc multe substanțe organice care prezintă activitate biologică opusă vitaminei B_{12}, cel puțin pentru anumite condiții. Dintre aceste substanțe unele aparțin categoriei omologilor structurali ai vitaminei B_{12}, altele heterologilor structurali.

Unele modificări în structura chimică a vitaminei B_{12} duc la obținerea omologilor structurali, antivitaminici. Astfel, substituind atomii de hidrogen din funcția amidică a resturilor de propionamidă, cu unii radicali, sau substituind restul de izopropanolamină, cu alte resturi de amino-alcooli, se formează substanțe organice, cu structura chimică foarte asemănătoare vitaminei B_{12}, dar cu acțiune biologică opusă acesteia.

De asemenea, îndepărtarea atomului de cobalt sau înlocuirea restului de adenozină legat de atomul de cobalt cu radicali alchilici determină apariția altor substanțe cu acțiune biologică opusă vitaminei B_{12}.

Din categoria heterologilor structurali antivitaminici fac parte derivați de benzen, benzimidazol, purină, nicotinamidă etc.

S-a stabilit de către Wooley (1950) că produșii 1,2-diclor-4-5-diaminobenzenul (sub formă de clorhidrat), 1,2-dibrom-4,5-diaminobnzenul, 1,2-diclor-4-nitro-5-hidroxibenzenul și alții manifestă acțiune inhibitoare asupra biosintezi corrinoidelor, pentru unele microorganisme.

S-a mai constatat acțiune antivitaminică B_{12} și pentru: 4,5,6-triclorbenzimidazol, 6-mercaptopurina, derivați ai nicotinamidei, fără să se precizeze care este mecanismul acestei acțiuni.

Rolul vitaminei B_{12} în zootehnie. Avitaminoza B_{12} apare frecvent la păsări, ca rezultat al unei alimentații necorespunzătoare și se manifestă prin întârzierea creșterii, tulburări în procesul ouatului, al clocitului, scade procentul de ecloziune. Apar mortalitatea embrionului și malformații la puii de găină; aceștia prezintă nesiguranță în mers.

Necesarul de vitamină B_{12} pentru găini este de circa 10-20 mg/kg de rație alimentară (W. H. Ott; R. J. Lillie - 1948).

Avitominoza B_{12} apare și la porcine, manifestându-se prin încetarea creșterii, anemie și în circa două luni apare moartea. Vitamina B_{12} este foarte necesară pentru reproducerea normală și pentru lactația corespunzătoare la scroafe (G. C. Anderson - 1950).

Deși la rumegătoare necesarul de vitamină B_{12} se asigură pe cale endogenă, totuși unele cercetări efectuate de C. B. Johnson și colaboratorii (1951) au arătat că pentru o bună dezvoltare a vițeilor este necesară și o cantitate de vitamină B_{12} de natură exogenă.

Lipsa vitaminei B_{12} la oi determină o incapacitate de metabolizare a acidului propionic, produs principal care apare în fermentația gastrointestinală. J. P. Anderson și E. D. Andrews (1952) au demonstrat faptul că lipsa de cobalt, la oi, determină și scădera cantității de vitamină B_{12} din organismul lor.

În general, vitamina B_{12} influențează favorabil creșterea animalelor, încât este necesară în hrana lor și prezența produselor proteice de origine animală, știut fiind faptul că acestea conțin și așa-zisul „factor de creștere".

S-a constatat că subprodusele de la obținerea antibioticelor favorizează în bună măsură creșterea animalelor, ceea ce a determinat folosirea lor în furajare, ca sursă exogenă de vitamină B_{12} și factor de creștere.

1.3.7. Vitamina C

Generalități. Vitamina C, numită și vitamina ascorbică, este una dintre vitaminele cele mai răspândite și de foarte mare importanță biologică. Lipsa ei din alimentație duce la boala numită scorbut, cunoscută încă din antichitate. Boala apărea la navigatori și la ostași care în expedițiile lor se hrăneau cu conserve, lipsindu-le fructele și legumele.

Denumirea de scorbut a fost dată în anul 1543 de către Enricus Cordus. S-a constatat încă din evul mediu că această maladie se previne dacă în alimentație se introduc roșii, varză, fructe proaspete și mai ales citrice, ceea l-a determinat pe Sir James Lancaster (1661) să dispună introducerea lămâilor și a portocalelor în hrana marinarilor. Mai târziu, J. B. Dumas (1871) și N. Lunin (1881) considerau că laptele este un aliment antiscorbutic.

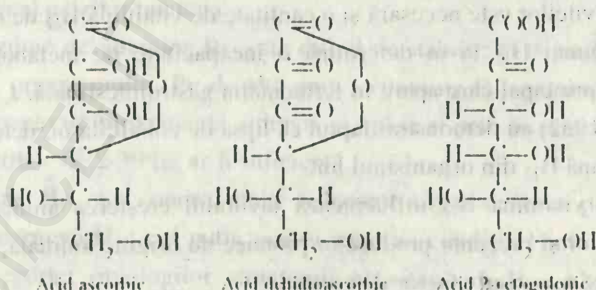
Prin producerea scorbutului experimental la cobai, A. Holst și T. Fröhlich (1907-1912) au demonstrat că această boală este cauzată de o avitaminoză; deci în alimente există un principiu antiscorbutic, considerat de Funk (1912) drept o vitamină. În anul 1920, Von Drummond propune pentru principiu antiscorbutic denumirea de vitamina C.

În 1928, Szent-Györgyi izolează din glandele suprarenale, din portocale, din sucul de varză, o substanță cu caracter acid și puternic reducător, pe care o numește „acid hexuronic", având formula moleculară $C_6H_8O_6$. Peste patru ani, același savant și alți cercetători identifică acidul hexuronic cu vitamina C. S. Gyorgyi introduce denumirea de „acid ascorbic", care s-a păstrat în știință.

Structura chimică a vitaminei C. Din punct de vedere chimic, acidul ascorbic este lactona acidului 2,3-dienol-L-gulonic (acidul 2-cetogulonic).

Structura chimică a vitaminei C a fost propusă de Karrer (1932) și de către Haworth, Hirst și Reynolds, iar apoi confirmată pe cale sintetică. Sinteza vitaminei C a fost realizată de Reichstein și Haworth; astăzi vitamina C se fabrică în industrie, folosind glucoza ca materie primă.

În structura chimică a vitaminei C, pe lângă ciclul lactonic, există două funcții alcoolice (în pozițiile 5 și 6) și două grupe enolice (în pozițiile 3 și 4), așa precum se observă în continuare:



Acid ascorbic   Acid dehidroascorbic   Acid 2-cetogulonic

Proprietăți vitaminice are și acidul dehidroascorbic.

Desfacerea ciclului lactonic duce la pierderea proprietăților vitaminice.

Deși nu are grupare carboxilică, caracterul acid al vitaminei C se explică prin proprietatea hidrogenului enolic din poziția 3 de a protoniza.

Proprietăți și răspândire. Acidul ascorbic este o substanță albă, care cristalizează în sistemul monoclinic și se topește la 190...192°C, când se descompune. Este optic activ și are gust acru. Se dizolvă în apă, alcool, glicerină, acetonă; nu se dizolvă în: benzen, cloroform, eter de petrol.

În stare cristalină și uscată, vitamina C este stabilă în aerul atmosferic, în soluții însă se oxidează ușor. Procesul de oxidare este favorizat de prezența unor metale, fier, cupru etc. Oxidarea ușoară se explică prin proprietatea acidului ascorbic de a ceda ușor cei doi atomi de hidrogen enolici, manifestând astfel un caracter puternic reducător cu formare de acid dehidroascorbic. În soluții acide îi crește rezistența la oxidare, aceasta fiind maximă la *p*H 4. Este de menționat acțiunea stabilizatoare asupra vitaminei C manifestată de acidul acetic în prezență de acid metafosforic, cât și a unor substanțe tiolice (cisteină, glutation).

Prin fierberea alimentelor se distruge o parte din vitamina C; cantitatea distrusă crește cu durata fierberii. Prin congelare sau pasteurizare, cantitatea de vitamină C care se pierde este neglijabilă.

Vitamina C este foarte răspândită în natură, mai ales în regnul vegetal. Surse bogate în vitamina C sunt: fructele de măceș, citricele, nuca verde, acele de conifere, varza, pătrunjelul, ardeii, conopida, spanacul, zmeura, roșiile, căpșunele, coacăza etc. Cartofii, deși au un procent mai mic de vitamina C, fiind folosiți în cantitate mare în alimentație, asigură o bună parte din necesarul acestei vitamine. Dintre produsele de proveniență animală, mai bogate în vitamină C sunt: ficatul de vițel, ficatul de porc, rinichii, splina, laptele proaspăt, nefiert.

Tabelul 1.11. **Conținutul în vitamină C în unele alimente (mg/100 g produs)**

Cartofi	15-30	Mere	5-6
Vinete	15	Căpșune	60
Fasole	0-5	Măceșe	400
Mazăre verde	25-35	Ace de conifere	150-300
Varză	140-180	Pepene verde	6-7
Ardei, afine	160	Portocale	50
Varză roșie	50-100	Afine	200-800
Usturoi	8	Zmeură	28-45
Ardei grași	120-300	Urzici	50-100
Ardei roșii	250-300	Fragi	30
Pătrunjel	150	Căpșune	25-120
Sparanghel	40-50	Coacăză neagră	140-300
Conopidă	70-75	Nuci verzi	1 000-1 800
Salată	10-50	Mărar	50- 100
Morcovi	5-9	Hrean proaspăt	200
Castraveți verzi	5-10	Lucernă	225
Ceapă	60	Ficat de vită	30
Roșii	25	Ficat de vițel	35
Ridichi	27	Ficat de porc	22
Spanac	15	Rinichi	12,7
Banane	10	Măduvă	18

Tabelul 1.11. (continuare)

Sfeclă de zahăr	30-40	Creier	17,5
Piersici	7-10	Carne de vită, porc	0-1
Lămâi	50	Splină	38,8
Grape fruit	40	Lapte de vacă	1-1,6

În plasma sanguină umană există aproximativ 1 mg acid ascorbic la 100 ml sânge.

Rol în organism. Lipsa vitaminei C din organism duce la apariția scorbutului, boală determinată și de lipsa concomitentă a vitaminei P. Această boală se întâlnește mai frecvent la copii și mai puțin frevent la adulți.

Alimentarea copiilor, un timp îndelungat, cu lapte de vacă și alte alimente sărace în vitamina C duce la apariția scorbutului, care se manifestă prin pirderea în greutate, insomnie, modificări osoase, hremoragii cutanate și musculare, încetarea creșterii.

La adulți, scorbutul apare mai rar; primele simptome constau în apariția asteniei, scăderea capacității la efort și la infecții, dureri articulare, uscarea tegumentelor, hemoragii subcutanate, musculare, gingivale și subperiostale, inflamații și dureri osoase, fracturi ale oaselor care se consolidează greu. În stadiu avansat apar febră, hemoragii viscerale, necrozarea oaselor, complicații pulmonare. Apar tulburări metabolice.

În organismul omenesc vitamina C îndeplinește numeroase funcții, având o proprietate de a participa la foarte multe procese fiziologice și metabolice.

Nu se poate vorbi de un rol de coenzimă a vitaminei C, deși ea acționează în multiple procese enzimatice, având rol de cofactor, de transportor, de protector etc. Se consideră că are rol de coenzimă pentru o tioglucozidază, existentă în semințe.

Vitamina C are un rol important în formarea colagenului și a substanței intracelulare, care reticulează fibrele în colagen, intervine în structura țesutului osos, ajută procesul de cicatrizare. În structura colagenului există un procent ridicat de hidroxiprolină și hidroxilizină. Vitamina C ajută oxidarea prolinei din tropocolagen la hidroxiprolină și respectiv a lizinei la hidroxilizină, reacția fiind catalizată de colagen-prolinoxidază (Robertson 1961; Udenfried 1966). Procesele de hidroxilare de mare importanță care se petrec în ficat (hidroxilarea colesterolului), în corticosuprarenală (hidroxilări care duc la biosinteza hormonilor steroizi), trecerea tirozinei în adrenalină etc. sunt, de asemenea, favorizate de prezența vitaminei C.

Vitamina C este un activator al sintezei 5-hidroxitriptofanului, precursor al serotoninei în organism. Stimulează acțiunea unor enzime (arginaza, catalaze, esteraze) și are rol de protecție asupra fosfatazei. În același timp, inhibă activitatea altor enzime (ribonucleaza, dezoxiribonucleaza etc.). Vitamina C intervine în metabolismul unor acizi aminici, în sinteza mucopolizaharidelor.

De mare importanță este acidul ascorbic în oxidările celulare, acționând ca un sistem oxidoreducător, proprietate explicabilă prin structura chimică a moleculei sale.

Vitamina C intervine în metabolismul glucidelor, stimulând procesul de gluconeogeneză (prin intermediul insulinei și al hormonilor cortico-suprarenalei), ajută biosinteza acidului glucuronic, produs foarte important în sintezele protectoare ale organismului.

Prezența acidului ascorbic este necesară și pentru dehidrogenarea acizilor grași (palmitic, stearic), la acizi nesaturați, cât și pentru reducerea cationilor Fe^{3+} la Fe^{2+}, care astfel pot participa la formarea hemului și deci a hemoglobinei.

Vitamina C prezintă interacțiuni cu alte vitamine, cum sunt: vitamina A, vitamina E, vitamina B. Prezintă și interrelații hormonale.

Este de subliniat rolul vitaminei C în ușurarea adaptării organismului la frig. În stările de răceală, organismul se „sărăcește" în vitamina C, de unde apare necesitatea introducerii acesteia, în mod special, pe cale bucală; ea are rol și în apărarea organismului la infecții.

Procesele canceroase sunt agravate în avitaminoză C; vitamina C previne apariția cancerului prin intensificarea metabolizării și hidrosolubilizării compușilor cancerigeni.

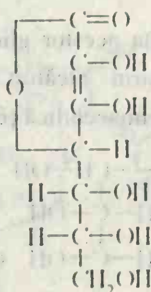
Omul, maimuțele și cobaiul nu pot sintetiza vitamina C, încât aceasta trebuie introdusă din exterior.

Necesarul zilnic de vitamină C pentru om variază funcție de vârstă, stare biologică, condițiile de viață etc. Se apreciază acest necesar pentru sugari la 30-50 mg, pentru copii între10-15 ani la 90 mg, pentru un om adult la 75-80 mg, pentru femei în perioada sarcinii la 100 mg, iar în perioada de lactație la 120-150 mg.

Vitamina C este absorbită cu multă ușurință la nivelul tractusului gastrointestinal. În caz de introducere a unor cantități mari de vitamină C în organism se produce eliminarea ei prin urină.

Antivitamine C. Se cunosc puține substanțe cu acțiune opusă vitaminei C. Experimental, s-a observat că administrarea de acid glucoascorbic la animale duce la apariția simptomelor caracteristice scorbutului, concomitent cu încetinirea dezvoltării.

Se poate observa că acidul glucoascorbic este un analog structural al vitaminei C; deci creșterea catenei de atomi de carbon duce la dispariția proprietăților vitaminice.



Acidul glucoascorbic

Rolul vitaminei C în zootehnie. Deoarece animalele au proprietatea de a-și sintetiza acidul ascorbic, nu se semnalează cazuri de avitaminoză C. Este sigur că și în organismul animalelor vitamina C ajută procesele metabolice și cele de oxidoreducere.

S-a constatat, prin cercetări experimentale, că acidul ascorbic participă atât în transportul de electroni, cât și în procesele de hidroxilare, ce se petrec în organismul mamiferelor. De asemenea, s-a pus în evidență influența favorabilă asupra creșterii puilor. Vitamina C ajută în mod vizibil vindecarea sclerodermiei la porci, mai ales în prezența cationilor de Cu^{2+}.

Un rol important joacă vitamina C în metabolismul glucidelor, manifestând un rol hipoglicemiant. La animale carențate în vitamină C apare o scădere a cantității de glicogen din ficat și din mușchi.

După unele păreri, vitamina C este necesară păsărilor pentru producerea ouălor cu coajă mai rezistentă. Are rol important și în procesul de reproducere, explicat prin interacțiunea ei în sinteza hormonilor sexuali. Mărește rezistența la infecții. Ajută transformarea acidului folic în acid folinic.

Ajută formarea hidroxiprolinei, substanță constituentă a colagenului, compus necesar menținerii materialului intercelular.

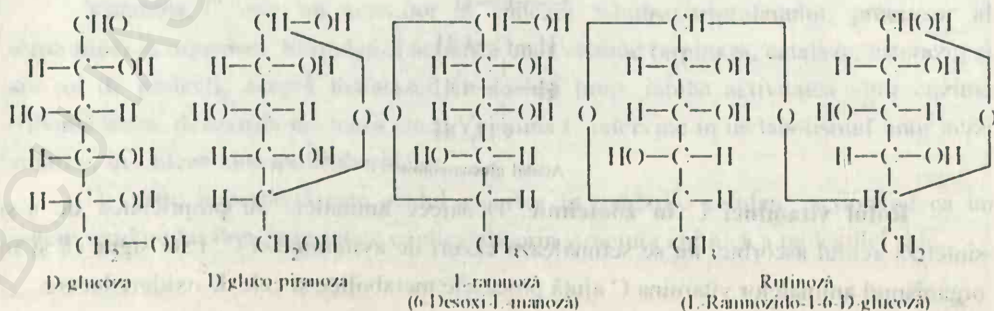
1.3.8. Vitamina P

Generalități. În anul 1936, Sznt-Györgyi și Rusznyak au constatat că unele perturbări caracteristice scorbutului (fragilitatea și permeabilitatea capilarelor care duc la fenomene de purpură) nu dispar prin administrarea de acid ascorbic pur; aceste tulburări dispar însă prin folosirea extractelor naturale bogate în vitamina C, ca extractul de lămâie, extractul de ardei roșii, cunoscute sub numele de „citrine". S-a tras concluzia că scorbutul este cauzat de o poliavitaminoză.

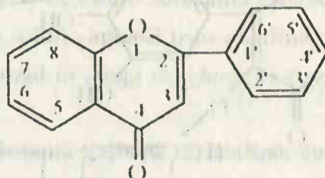
Cercetările au pus în evidență faptul că vitamina C este asociată în produsele naturale cu alte substanțe biologic-active. S-a constatat că aceste substanțe sunt glicozizi, în care agliconul aparține compușilor flavonici și au căpătat denumirea de vitamine P, respectiv vitamina permeabilității sau vitamina C_2.

Structura chimică a vitaminelor P. Din citrine s-au izolat mai mulți glicozizi, care alcătuiesc vitaminele P; dintre aceștia mai cunoscuți sunt: quercitina, hesperidina, rutina, eriodictina, și esculina. Din categoria vitaminei P mai fac parte și chalcona și 1-metilchalcona hesperidinei.

Partea glucidică din componența acestor glicozizi o formează glucoza, ramnoza (monozaharid) sau rutinoza (dizaharid alcătuit din ramnoză și glucoză); toate monozaharidele se găsesc sub formă semiacetalică (ciclizate):

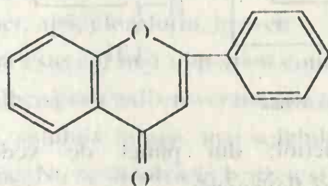

D glucoza; D gluco-piranoza; L-ramnoză (6 Desoxi-L-manoză); Rutinoză (L-Ramnozido-1-6-D-glucoză)

Agliconul este un compus polifenolic, derivat de flavonă:

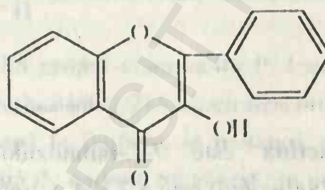


Flavonă

Prin hidrogenarea legăturii din poziția 2-3 se formează flavonona, iar prin introducerea unei grupări hidroxilice în poziția 3 rezultă flavonolul:

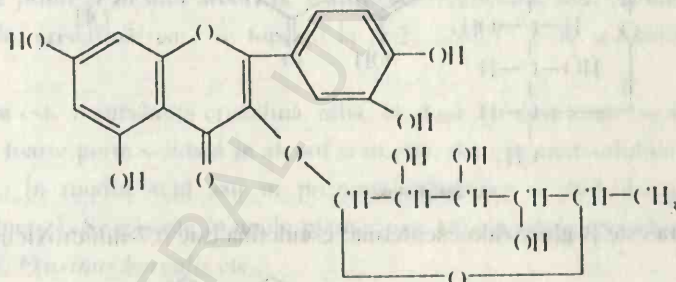


Flavanonă
(2,3 Dehidroxiflavonă)



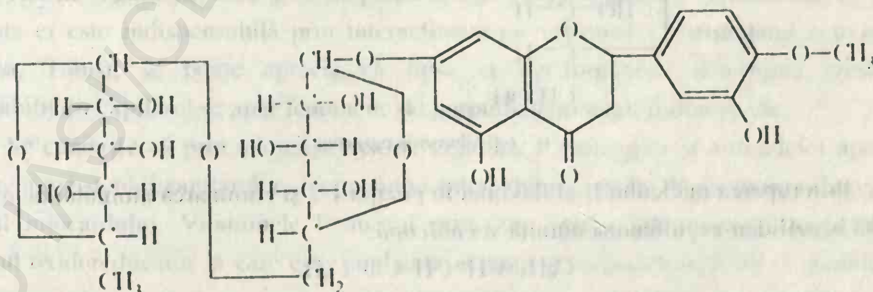
Flavonol
(3-Hidroxiflavona)

Quercitrina este glicozidul ramnozei, agliconul fiind quercetina, numită 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavonă, sau 5,7,3',4'-tetrahidroxi-flavonol:



Quercetina sau L-ramnozido-1,3 quercetina

Hesperidina este glicozidul rutinozei, având ca aglicon hespertina (hesperidol), respectiv 5,7,3'-trihidroxi-4-metoxiflavanona:



Rutinozido-1,7-hesparidol sau 7-ramno-glucozido-hespertină

Rutina (rutin) este 3-ramno-glicozida quercetinei, deci glucidul din componența ei este rutinoza, iar agliconul ste quercetina, legarea rutinozei realizându-se la hidroxidul din poziția 3 a quercetinei:

Rutinozido 1-3-quercetina

Eriodictina este 7-L-ramnozido-eridictiol; din punct de vedere chimic eriodictiolul (agliconul) este 5,7,3',4'-tetrahidroxi-flavanonă:

Eriodictina

Esculina este β-glucozido-esculetina; esculetina este 6,7-dihidroxicumarina:

6-β-Glucozido-esculetina

Prin ruperea nucleului B al flavonei în poziția 1-2 și eliminarea atomului de oxigen rezultă benziliden-acetofenonă numită și *chalconă*:

$$C_6H_5\ CH\ CH\ CO\ C_6H_5$$

Chalcona și metilchalcona hesperidinei se consideră că au proprietăți de vitamină P.

Proprietăți și răspândire. Quercitrina este o substanță solidă, cristalină, colorată în galben, care se topește la 250...252°C. Este solubilă în alcool și insolubilă în apă. Poate

hidroliza, rezultând L-ramnoză și quercetină. Se găsește în coaja arborelui *Quercus tinctoria*. Agliconul său, quercetina, este o substanță cristalină, galbenă, care se topește la 313 ... 314°C. Este solubilă în soluție apoasă ușor alcalină, în acid acetic și în alcool cald. Se găsește sub forma de glucozid în coajă de *Quercus tinctoria*, în ceai, hamei, pansele, trandafiri etc.

Hesperidina este o substanță galbenă, cristalină, care se topește la 258 ... 260°C. Este solubilă în apă, piridină, etanol, puțin solubilă în metanol și insolubilă în sulfură de carbon, eter, cloroform, benzen, acetonă. Se găsește în citrice și mai ales în lămâie. Agliconul său, hesperitina, este o substanță cristalină, care se topește la 224 ... 225°C și se descompune la 233°C. Se dizolvă în soluții alcaline diluate; este solubilă în etanol și greu solubilă în eter, apă, cloroform, benzen.

Rutina este cel mai important compus din grupul vitaminelor P. Este o substanță cristalină, galbenă sau galben-verzuie, se topește la 214 ... 215°C, cu descompunere. Este higroscopică, solubilă în apă, mai solubilă în apă la fierbere, în metanol, piridină și în soluții alcaline. Nu se dizolvă în benzen și sulfură de carbon. Se găsește în unele plante și mai ales în trișcă și în frunze verzi de tutun.

Eriodictina este o substanță solidă, gălbuie, care se topește la 184 ... 186°C, cu dscompunere. Se dizolvă în apă, în piridină și în soluții alcaline. Se găsește în citrice, în unele specii de pruni și în unii arbori de California. Agliconul său, eriodictiolul, este o substanță solidă, cristalină, care se topește la 262 ...267°C. Este solubilă în apă și în etanol.

Esculina este o substanță cristalină, albă, inodoră, cu gust amar; se topește la 204 ... 205°C. Este foarte puțin solubilă în alcool și în eter, dar este mai solubilă în metanol și în acid acetic. În mediu acid sau în prezența emulsinei se hidrolizează, rezultând esculetină și glucoză. Se găsește în unele plante, mai ales în coaja speciilor de: *Aesculus hippocastanum*, *Fraxinus borealis* etc.

Agliconul său, esculetina, este o substanță solidă, care se topește la 268 ... 272°C, cu descompunere. Este solubilă în alcoolul diluat și insolubilă în eter sau apă caldă.

Vitaminele P în general se găsesc alături de vitamina C în fructe și legume.

Rol în organism. Este greu de precizat care sunt simptomele avitaminozei P, dar prezența ei este indispensabilă prin interacțiunea cu vitamina C, stimulând activitatea acesteia. Totuși, se poate aprecia că lipsa ei din organism determină creșterea permeabilității capilarelor; apar fenomene de purpură, hemoragii retiniene etc.

Se cunoaște că prin administrarea de vitamine P oamenilor și animalelor apare o creștere a rezistenței capilarelor și a presiunii intercapilare; crește de asemenea diureza și tonusul miocardului. Vitaminele P au rol protector asupra vitaminei C, participă la sistemul oxidoreducător la care este implicată aceasta și asigură transferul oxigenului în capilare.

Vitaminele P interacționează cu unele enzime (inactivându-le), cu unele glande endocrine (tiroida, suprarenalele etc.). Intervin în metabolismul apei, al electroliților, glucidelor, proteinelor. În concentrații mai ridicate manifestă acțiuni antibacteriene și antivirale (în mod deosebit rutina).

În plante, vitaminele P contribuie la pigmentarea florilor și fructelor.

Se apreciază că necesarul zilnic ar fi de circa 200 mg. Absorbția vitaminelor P are loc la nivelul intestinului.

1.3.9. Acidul pantotenic

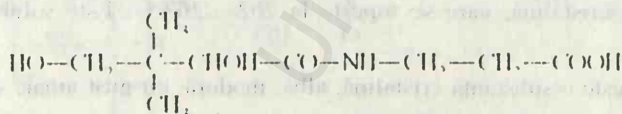
Generalități. Acidul pantotenic a fost prevăzut de către Wildiers (1901) ca un component al complexului bios, ce favorizează creșterea drojdiei în mediul sintetic; el s-a dovedit a fi și un factor „antidermatitic" al puilor de găină, fără a influența dermatita șobolanilor.

A fost identificat de către R. J. Williams (1931) și izolat din extractele diferitelor plante și țesuturi animale (1933), iar în anul 1938 a fost izolat și din ficat.

Deoarece acest factor era foarte răspândit, fiind găsit în multe celule vii, i s-a dat numele de acid pantotenic (pantothen = peste tot), fiind numit și vitamina B_5, tot de către Williams.

Mai târziu, s-a constatat că acidul pentotenic este indispensabil creșterii unor bacterii și apoi s-a evidețiat rolul vitaminic pentru animalele superioare.

Structura chimică a acidului pantotenic. Williams a izolat acidul pantotenic în stare pură (1939) și împreună cu Major i-au stabilit structura chimică (1940) ca fiind 2,4-dihidroxi-3,3-dimetil-butiril-alanină:



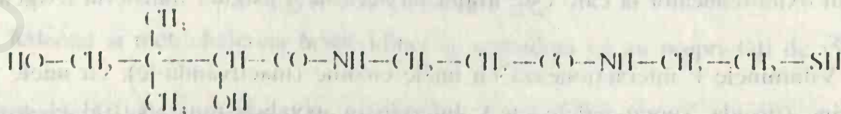
$$HO-CH_2-C(CH_3)_2-CHOH-CO-NH-CH_2-CH_2-COOH$$

Se poate aprecia că acidul pantotenic este un monopeptid al β-alaniei cu acidul pantoic; prin hidroliză alcalină, aceste două componente se pun în libertate.

Structura chimică a acidului pantotenic a fost confirmată și prin sinteză, ralizată concomitent (1940) de către mai mulți cercetători (R.Kuhn, F.T.Stiller, T.Reichstein, H.Wieland și alții).

În organismul animalelor superioare, acidul pantotenic se găsește sub formă de pantotenol, compus organic care are, în locul grupării carboxilice libere, o grupare de alcool primar $-CH_2-OH$.

Importanța biochimică a acidului pantotenic a crescut mult, după descoperirea coenzimei A (1948), din a cărei componentă face parte (F.Lipmann, N.O.Kaplon). Acidul pantotenic este o componentă a panteteinei, prin intermediul căreia intră în molecula coenzimei acetilării. Panteteina a fost sintetizată în 1950 de Snell și Wittle, ca având următoarea structură chimică:



$$HO-CH_2-C(CH_3)_2-CH(OH)-CO-NH-CH_2-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-SH$$

Pantotenatul de calciu se folosește în combaterea infecțiilor căilor respiratorii și a inflamațiilor mucoaselor (gastrite, bronșite etc.).

Proprietăți și răspândire. Acidul pantotenic se prezintă sub forma unui ulei vâscos, de culoare galben deschis, higroscopic, solubil în apă și acid acetic; este puțin solubil în alcool și insolubil în benzen, cloroform, tetraclorură de carbon. Este stabil la *p*H 5,5-7 și insolubil la *p*H mai mic sau mai mare. Prin încălzire se distruge. Sub formă de sare de sodiu sau de calciu se prezintă sub formă de pulbere albă, solubilă în apă. Pantotenatul de calciu se topește la 195...196°C, cu descompunere.

Acidul pantotenic este optic activ, forma dextrogiră având activitate biochimică.

Prin substituția β-alaninei din structura sa cu alți acizi aminici (alanină, lizină, acid asparagic) sau prin acetilare, dispare activitatea biologică.

Acidul pantotenic este foarte răspândit în natură, atât în regnul animal, cât și în regnul vegetal. Sub formă liberă se găsește în ficat, rinichi, splină, inimă, creier, lapte, lapți de pește, coaja cerealelor, lăptișor de matcă. În sânge, cantitatea de acid pantotenic este de aproximativ 20 μg/100 ml.

Tabel 1.12. **Conținutul în acid pantotenic în unele alimente (mg/100 g produs)**

Ficat de vită	76-100	Morcov	2,5-5
Ficat de porc	16-50	Tărâțe de orez	30
Ficat de oaie	40-50	Ciuperci	17-20
Carne de porc	3,4-13	Fasole, mazăre	8-10
Pește	10	Conopidă	9,2
Gălbenuș de ou	63-70	Varză albă	3-4,6
Lapte de vacă	2-5	Cartofi	0,32-0,7
Pâine neagră de secară	14	Roșii	3,7
Brânză	2,5-9	Mere	0,6
Germene de grâu	5,1	Portocale	1-3,4
Făină de grâu	1-10	Soia	1,4
Făină de secară	0,7-20	Fasole	0,06-1

O sursă foarte bogată în acid pantotenic o constituie drojdia, care, în stare uscată, conține circa 200 μg/g. În țesuturile animale se găsește în componența coenzimei A, a panteteinei și a fosfopanteteinei.

Se apreciază că necesarul zilnic pentru om este de 10 mg acid pantotenic la o dietă corespunzătoare la 2 500 calorii.

Rol în organism. Deoarece acidul pantotenic este sintetizat de flora intestinală și se găsește în foarte multe alimente, avitaminoza pantotenică nu apare la om, decât foarte rar. În hipovitaminoză apare o sensibilitate ridicată a organismului la insulină, scăderea secreției gastrice, creșterea concentrației vitaminei C în sânge. Starea de avitaminoză se manifestă prin tulburări gastrointestinale, hepatice și respiratorii, dermatite, scăderea rezistenței la infecții, decolorarea și căderea părului.

Carența în acidul pantotenic a organismului uman duce la creșterea excreției cutanate a porfirinelor (persoane cu roșu în obraji tot timpul).

Avitaminoza pantotenică umană este o excepție, dar dacă apare la persoanele subalimentate, boala se manifestă ca o acroparestizie (burning feet - picioare arzânde) care dă senzația de arsuri ale membrelor inferioare.

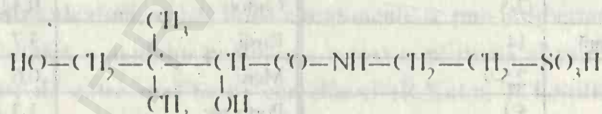
La animalele de experiență, lipsa acidului pantotenic provoacă leziuni hepatice și renale, depigmentarea părului, perturbări ale ritmului cardiac, tulburări metabolice și de creștere

Rolul important al acidului pantotenic în organism este îndeplinit prin prezența sa în structura chimică a coenzimei A (acetil-coenzima), participând la multe procese metabolice. Dintre acestea fac parte procese de degradare a glucidelor, lipidelor și a unor aminoacizi, biosinteze ale acizilor grași, ale gliceridelor, ale unor aminoacizi, ale colesterolului. Este de subliniat importanța acetilcoenzimei și deci a acidului pantotenic în procesele de transformare a grupărilor acetil și acilice, în general. Datorită grupării mercaptanice libere (existentă în molecula panteteinei), acetil-coenzima participă la procesele de reducere și oxidare; participă și la sinteza corticosteroizilor în glanda suprarenală.

În organism, acidul pantotenic manifestă o serie de interacțiuni cu alte vitamine, cum sunt tiamina, riboflavina, vitamina B_{12}, vitamina C.

Antivitamine ale acidului pantotenic. Se cunosc mai mulți antagoniști ai acidului pantotenic, aparținând analogilor structurali.

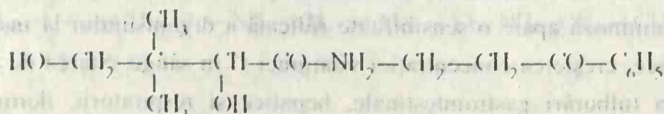
Din prima categorie face parte pantoiltaurina, substanță ce rezultă teoretic prin substituția grupării carboxilice din β-alanină conținută în acidul pantotenic, cu o grupare sulfonică:



S-a constatat experimental că pantoiltaurina duce la scăderea glicemiei și colesterolemiei, însoțită de reducerea capacității de sinteză a coenzimei A în ficat.

Substituind gruparea carboxilică din acidul pantotenic cu grupare mercaptanică (-SH), rezultă pantoil-amino-etantiolul, care inhibă formarea coenzimei A la nivelul țesuturilor la șobolani; administrat animalelor superioare induce carență în acid pantotenic.

Analogi structurali pot rezulta substituind hidrogenul grupării carboxilice cu metil, când apare pantotenatul de metil, sau substituind oxidrilul grupării carboxilice cu fenil, când rezultă acetonă numită fenil-pantotenona, cu structura:



În loc de fenil, poate fi introdus un rest de toluen, formându-se cetona numită totilpantofenonă. Ambele cetone inhibă participarea acidului pantotenic la formarea CoA.

Prin înlocuirea β-alaninei din structura acidului pantotenic cu alți aminoacizi, rezultă compuși organici fără activitate biologică. Analogi structurali pot să apară și prin substituția grupărilor metilice din molecula acidului pantotenic cu diferiți alți radicali; produșii ce apar au activitate biologică inferioară acidului pantotenic.

Din categoria heterologilor structurali fac parte acidul salicilic, salolul, acidul 2-clor-4-aminobenzoic și alți produși, care sunt antagoniști ai acidului pantotenic. Din această categorie face parte și streptomicina care inhibă formarea acidului pantotenic din acidul pantoic și β-alanina.

Se cunosc și heterologi care au acțiune sinergică cu acidul pantotenic, ca de exemplu: vitamina C, metionina, cisteina și alții, care manifestă acțiune de protejare a CoA.

Rolul acidului pantotenic în zootehnie. În organismele animalelor, acidul pantotenic joacă un rol foarte important prin participarea sa la constituția coenzimei A, prin intermediul căreia intervine în multe procese metabolice. De altfel, toate speciile de animale sunt sensibile la lipsa acidului pantotenic, când apar tulburări gastrointestinale și cutanate.

Carența acidului pantotenic afectează în mod deosebit puiul de găină, la care apare „pelagra puiului", ce se manifestă prin cheratinizarea epidermei în jurul ochilor, a ciocului și labelor; în același timp apar încetarea creșterii, leziuni ale măduvei spinării, depigmentări, anemii. La găini carența de acid pantotenic duce la scăderea producției de ouă, dermatite și căderea penelor.

Lipsa acidului pantotenic provoacă la câini fenomene de hipoglicemie, tulburarea ritmului cardiac, putând să apară convulsii și comă; în același timp apar leziuni hepatice și renale, însoțite de depigmentarea părului.

Prezența acidului pantotenic în carența vitaminei C la animale normalizează unele din efectele acestei avitaminoze, asigurând creșterea în greutate și a duratei de viață.

Necesarul zilnic de acid pantotenic variază cu specia; la bovine se consideră că sunt necesare 0,5 - 2 mg la 100 g hrană, la păsări 1,1 la 100 g hrană, la câini 0,1 mg/kg greutate corporală, la porci 0,2 mg/kg greutate corporală.

Ținând seama de participarea acidului pantotenic la procese metabolice, se deduce că prezența sa în organismul animalelor superioare asigură dezvoltarea și creșterea lor, integritatea tegumentelor, rezistența la infecții, funcționarea normală a aparatului gastrointestinal, a rinichilor și a sistemului nervos.

1.3.10. Acidul folic

Generalități. Acidul folic este cunoscut atât sub numele de folacină sau acidul pteroilglutamic cât și sub alte denumiri. Acțiunea sa vitaminică se manifestă la microorganisme, insecte, animale superioare și la om.

În anul 1931, L. Wills a izolat din drojdia autolizată un factor antianemic ce s-a dovedit activ în cazul anemiei macrocitare, fiind prima menționare a acestui grup de

substanțe biologic-active. Împreună cu alți cercetători, **Wills** a constatat că anemia macrocitară poate fi tratată și cu extras de ficat, încât această substanță izolată din drojdie și din ficat a fost numită „factorul Wills".

Factorul Wills din drojdie s-a dovedit a fi activ și în cazul unui sindrom anemic apărut la maimuțe (Day, 1935), motiv pentru care s-a denumit și vitamina M (Monkey maimuță). Același factor favorizează creșterea găinilor (factor U sau vitamina U), fiind activ și în cazul creșterii bovinelor.

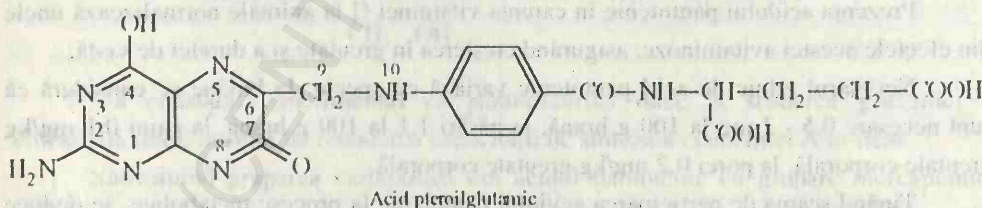
Snell și Peterson (1939) și Mitchell (1941) au izolat din frunzele de spanac un produs necesar culturilor de *Lactobacillus casei*, produs care avea proprietăți chimice și biologice foarte asemănătoare factorului activ izolat din ficat și drojdie; (de la cuvântul folium frunză, a rezultat și denumirea de acid folic).

Deoarece pentru izolarea acestui „produs" din frunzele naturale se folosea adsorbția pe cărbune (norit), urmând apoi eluarea cu o soluție amoniacală, i s-a dat denumirea de „Norite eluate Factor" (Snell și Peterson 1939-1940). Hogan și Parott (1940) au arătat că produsul izolat din drojdie are proprietăți antianemice pentru puiul de găină, de unde a rezultat și denumirea de vitamină B_c (*c* fiind inițiala cuvântului Chick pui de găină). Factorul B_c sau vitamina B_c a fost izolată în cantități apreciabile din ficat de către Stockstad (1943) și numită factorul „L.casei".

Prin cercetările întreprinse de Pfifner și colaboratorii (1943), Day și colaboratorii (1945), s-a ajuns la aprecierea identității dintre factorul *L.casei*, vitamina B_c și acidul pteroilglutamic, cărora li s-a dat denumirea generală de acizi folici.

Structura chimică a acizilor folici. Structura chimică a vitaminei B_c izolată din ficat a fost stabilită de R. B. Angier și alții (1945-1946) ca fiind identică cu acidul pteroilglutamic, produs pentru care se folosește și denumirea de acid folic.

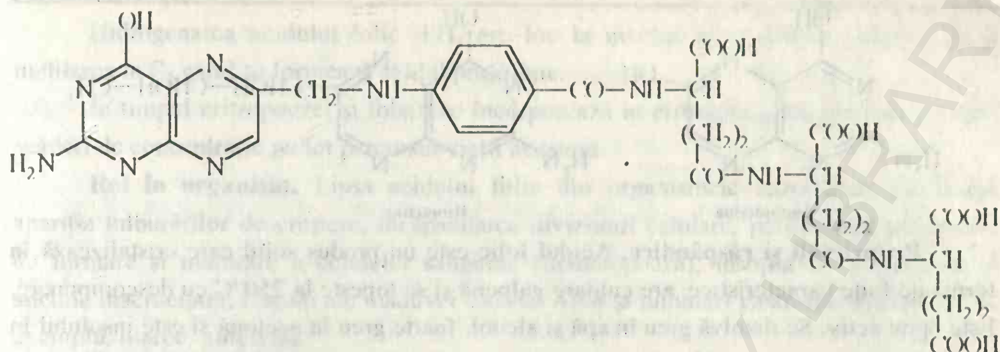
În structura chimică a acidului folic se disting trei părți: nucleul de pteridină, un rest de acid *p*-aminobenzoic și un rest de acid glutamic:



Acid pteroilglutamic

Molecula alcătuită din pteridină și acid *p*-aminobenzoic se numște acid pteroic.

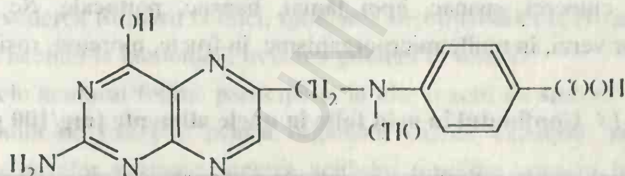
În natură se găsesc mai multe substanțe ce fac parte din categoria acizilor folici, care se numesc acizi pteroilglutamici conjugați; în molecula acestora se găsesc mai multe resturi de acid glutamic, unite prin legături peptidice. Astfel, din unele bacterii s-a izolat substanța denumită teropterină care conține, pe lângă acidul pteroilmonoglutamic, încă două resturi de acid glutamic; este deci acidul pteroil-triglutamic cu următoarea structură chimică:



Acidul pteroiltriglutamic (Teropterină)

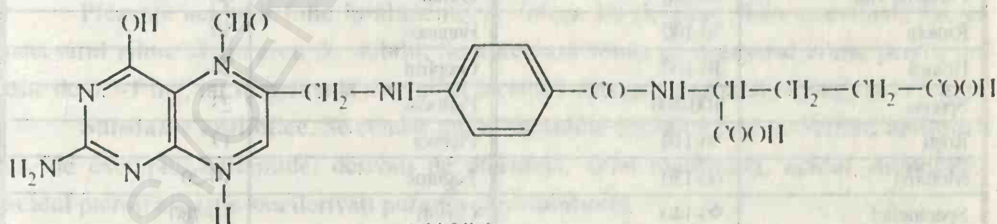
Din drojdii s-a izolat produsul ce conține 7 resturi de acid glutamic, fiind deci acidul pteroilheptaglutamic sau vitamina B_c conjugată. Se cunoaște și acidul pteroildiglutamic numit și diopterina. În celulele animalelor există enzime numite „conjugaze" care eliberează pe cale hidrolitică acidul pteroilglutamic din formele sale conjugate.

Derivatul formilat al acidului pteroic, numit rizopterină, este un factor de creștere pentru specia de *Streptococus lactis R*:



Rizopterina

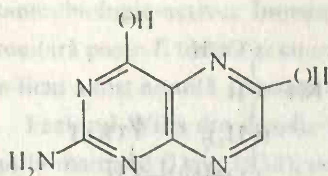
Acidul folic, prin reducere, trece în acid tetrahidrofolic. Unii derivați de acid folic au în structura lor gruparea formil -CHO, în poziția 5 sau 10. Forma cea mai activă a acidului folic este acidul 5-formil -6,7,8-trihidrofolic, indicat în literatură abreviat FH_4; mai poartă denumirea de acid folinic sau „citrovorum factor" (CF).



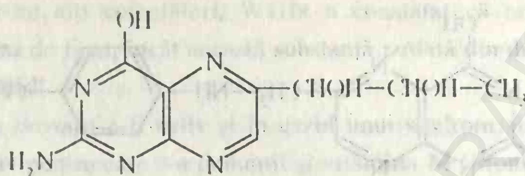
Acid folinic

Dacă în poziția 5 se găsește gruparea $-CH_3$, apare acidul 5-metil-6,7,8-trihidrofolic, numit și acidul prefolinic. Unii derivați de acid folic conțin punți metilenice sau metinice, în pozițiile 5-10.

Se cunosc și alte substanțe cu activitate folică, cum sunt: 2-amino-4,6-dioxipterina, numită *xantopterină* sau vitamina M, 2-amino-hidroxi-6-dioxipropilptrina, numită și *biopterină*, și vitaminele B_{10} și B_{11} (substanțe existente în ficat, necesare creșterii puilor de găină în prezența altor vitamine).



Xantopterina



Biopterina

Proprietăți și răspândire. Acidul folic este un produs solid care cristalizează în formă de foițe caracteristice, are culoare galbenă și se topește la 250°C cu descompunere. Este optic activ. Se dizolvă greu în apă și alcool, foarte greu în acetonă și este insolubil în cloroform, eter și benzen. În soluții apoase este ușor descompus de lumină și căldură. În mediu acid se hidrolizează la acid pteroic și acid glutamic. Este stabil în soluții neutre, chiar la încălzire.

În prezența catalizatorilor se poate hidrogena, rezultând acizii dihidro- și tetrahidrofolici (B.L.O'Dell 1947).

Acidul folic se găsește răspândit în natură atât în regnul animal cât și în cel vegetal. În cantitate mai mare apare în produsele de proveniență animală. Surse importante de acid folic sunt următoarele: ficat de pui și de vițel, ficat de vită și de porc, rinichi, drojdie, ciuperci, spanac, apoi lămâi, banane, portocale. Se mai găsește în frunzele plantelor verzi, în multe microorganisme, în fructe, morcovi, roșii, varză etc.

Tabelul 1.13. **Conținutul în acid folic în unele alimente (mg/100 g produs)**

Ficat de pui	370	Fasole verde	220
Ficat de vițel	450-850	Varză	100-500
Ficat de bovine	150-450	Germene de grâu	330-1 100
Ficat de porc	220	Bob de grâu	50-200
Carne de vițel	30-170	Drojdie	200-800
Carne de vită	30-100	Lămâi	80
Rinichi	30-100	Banane	30
Brânză	10-100	Grepfrut	24
Spanac	100-300	Portocale	23
Roșii	50-110	Piersici	17
Morcovi	60-130	Legume	10-20
Sparanghel	90-140	Cartofi	10-180
Ardei verde	130	Salată	70-100
Porumb	26	Ceapă	12

Prin prelucrarea la cald a alimentelor o parte din acidul folic se distruge; de exemplu, prin fierberea legumelor și a cărnii se distruge în proporții de 70-90%.

Absorbția acizilor folic și folinic necesită o deconjugare prealabilă la acid pteroilglutamic. Astfel se absoarbe la nivelul părții proximale a intestinului subțire prin procese active și pasive.

Hidrogenarea acidului folic -FH_4 are loc la nivelul mucoasei intestinale, ca şi metilarea la C_5 când se formează acidul prefolinic.

În timpul eritropoezei şi folaţii se încorporează în eritrocite unde persistă cu mici scăderi de concentraţie pe tot parcursul vieţii acestora.

Rol în organism. Lipsa acidului folic din organismele animalelor determină apariţia tulburărilor de creştere, incapacitatea diviziunii celulare, perturbarea procesului de formare şi maturare a celulelor sanguine (hematopoeză), însoţită de leucopenie şi anemie macrocitară, leziuni ale măduvei osoase. Apar şi tulburări gastrointestinale, ca, de exemplu, diaree, gingivită.

Acidul folic are un rol biochimic deosebit de important, manifestat prin intermediul coenzimelor în a căror constituţie se găseşte sub formă de acid folinic. În celulele organismelor animale, vegetale şi bacteriene aceste coenzime sunt implicate în procese de transfer ale fragmentelor de un atom de carbon ca, de exemplu, grupări metil, hidroximetil, formil, formiat (H COO). Transferul acestor grupări se face de la coenzimele ce au în componenţă derivaţi ai acidului tetrahidrofolic, având în poziţiile 5 sau 10 astfel de grupări. Ca acceptori ai fragmentelor de un atom de carbon C_1 sunt substanţe mai simple ce participă la procese de biosinteză ca, de exemplu: metilarea etanolaminei în vederea formării colinei, metilarea nicotinamidei la N-metilnicotinamidă, metilarea homocisteinei la metionină, trecerea glicinei în serină.

Coenzimele acidului folinic participă şi la alte reacţii de sinteză biochimică, care prezintă importanţă de excepţie pentru organism ca, de exemplu: sinteza grupărilor metilice, sinteza bazelor purinice, sinteza acidului timidilic, sinteza histidinei, sinteza proteinelor (în prima etapă, cea a formilării t RNA când se formează formilmetionina).

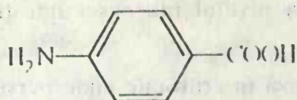
Acidul folic prezintă interacţiuni cu vitamina B_{12}. Lipsa acesteia duce la scăderea cantităţii de acizi folici. Carenţa în acid folic scade acumularea vitaminei B_{12} în rinichi şi ficat. Prezenţa acidului folic suplineşte în oricare măsură lipsa vitaminei PP, a acidului pantotenic, a biotinei. Are corelaţii şi cu vitamina B_1, cu vitamina C şi cu tiroxina.

Prezenţa acidului folic în alimente şi sinteza lui de către flora intestinală fac ca necesarul zilnic să fie greu de stabilit. Se apreciază totuşi că necesarul zilnic pentru om este de 0,5-1 mg, iar în perioada sarcinii şi lactaţiei acest necesar poate ajunge şi la 5 mg.

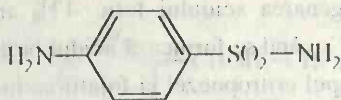
Substanţe antifolice. Se cunosc multe substanţe organice care au acţiune antifolică ca, de exemplu: sulfamide, derivaţi de pteridină, acizi metilfolici, acidul aminofolic, acidul pteroil aspartic sau derivaţi purinici şi pirimidinici.

Sulfamidele, prin analogia lor structurală cu acidul *p*-aminobenzoic, blochează sinteza acidului folic, intervenind în etapa legării acidului *p*-aminobenzoil-glutamic cu restul de pterină. Sulfamidele blochează atât reacţiile de formare a acidului tetrahidrofolic (Shive 1950) cât şi combinarea acestuia cu fragmente ce conţin un singur atom de carbon. Se consideră că sulfamidele blochează enzima care transformă acidul folic în acid tetrahidrofolic, formând cu acesta un complex foarte stabil.

Acizii metilfolici au o structură identică cu a acidului folic, sunt analogi structurali, având o grupare metil în poziţia 7,9 sau 10.



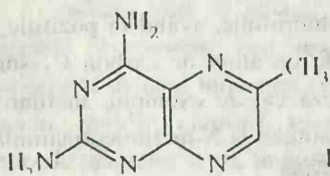
Acid *p*-aminobenzoic

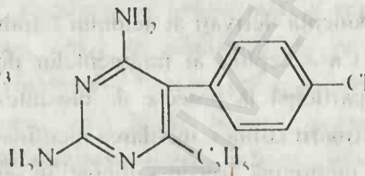


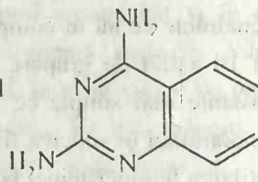
Sulfanilamida

Substituind gruparea -OH din poziția 4 cu gruparea $-NH_2$ apare un alt analog structural numit acid 4-aminofolic sau aminopterină; 10-metilaminopterina poartă numele de methotrexat. Acești compuși antifolici, aminopterina și methotrexatul, se leagă ireversibil de enzima ce catalizează hidrogenarea acidului folic, inhibând sinteza de FH_4 (acid folinic). Este de subliniat că acești compuși se folosesc în tratamentul leucemiei, a unor tumori, având însă un efect de durată limitată, determinat și de toxicitatea lor.

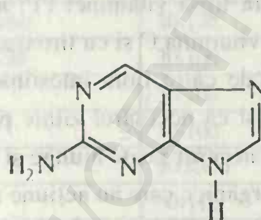
Dintre substanțele antifolice, derivați de pteridină și piramidină, fac parte: 2,4-diamino-6-metil-pteridina (I), 2,4-diamino-5-*p*-clorfenil-6-etilpirimidina (II) și 2,4-diamino-quinazolina (III), cu următoarele structuri chimice:

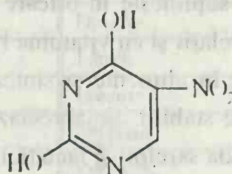


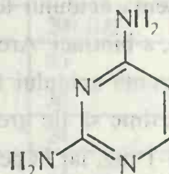




Derivații de pteridină formează pseudocoenzime folice, inactive din punct de vedere biochimic. Unii derivați purinici și pirimidinici, compuși antifolici, își manifestă acțiunea interferând cu bazele purinice și pirimidinice în procesele biochimice catalizate de co-enzimele folice. Exemple din această categorie sunt: 2,6-diaminopurina, 5-nitrouracilul, 2,6-diaminopirimidina.







Acidul pteroilaspartic se deosebește de acidul folic prin prezența unui rest de acid aspartic în locul acidului glutamic; este un analog structural care de asemenea formează pseudocoenzime folice, fără activitate biochimică.

Se cunoaște un număr mult mai mare de antimetaboliți ai acidului folic: in acest domeniu s-au elaborat cercetări foarte importante și la noi în țară (Schuster D.C.1980).

Importanța acizilor folici în zootehnie. Se poate interpreta că proprietățile acidului folic, manifestate prin intermediul coenzimelor folice, de a participa la procese biochimice esențiale, se manifestă și în organismul animalelor de importanță economică și agroalimentară.

Cercetările au pus în evidență faptul că lipsa acidului folic întârzie creșterea puilor de găină, împiedică dezvoltarea normală a penajului, iar la penele deja colorate apare o depigmentare. Carența acidului folic la câini duce la apariția de leziuni ale limbii și dezvoltarea nenormală a măduvei osoase. Totodată, lipsa acidului folic determină apariția unui sindrom caracteristic pentru anemie, la toate speciile de animale și perturbarea dezvoltării măduvei osoase (Arnstein; Cartwright și alții 1951).

Cercetări efectuate pe mamifere și păsări au scos în evidență rolul important al acidului folic în procesul de reproducție. Această vitamină este indispensabilă dezvoltării embrionului de pui, iar în carență folică ecloziunea este mult perturbată sau nu mai are loc. Prin adăugare de acid folic în hrană, procesul de ecloziune se normalizează.

S-a constatat că lipsa acidului folic determină scăderea producției de lapte. Lipsa acidului ascorbic din hrana animalelor duce la creșterea necesarului de acid folic.

S-a determinat că pentru o creștere normală, curcanii au nevoie de 26-34 mg acid folic la 100 g hrană.

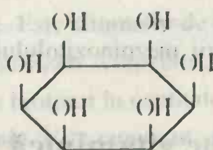
1.3.11. Mezoinozitolul

Generalități. Mezoinozitolul este un izomer al inozitolului, compus ciclic saturat ce conține șase grupări alcoolice. Mezoinozitolul a fost izolat din mușchiul inimii (J.Scherer 1850); se găsește în mușchii omului și animalelor, dar este mult răspândit în regnul vegetal și în microorganisme.

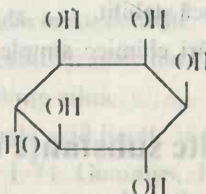
S-a observat că mezoinozitolul favorizează creșterea unor tulpini de drojdie, fiind numit „factor de creștere" și în această calitate poartă numele și de Bios I (E. V. Eastcott 1928). S-a pus în evidență faptul că în natură se găsește atât sub formă liberă, cât și esterificat cu acidul fosforic.

Mai târziu, s-a recunoscut că inozitolul are importanță în nutriția animalelor și a fost considerat ca o vitamină dar, din cei 8 izomeri ai săi, numai mezoinozitolul prezintă importanță biologică (Woolley 1940).

Structura chimică a mezoinozitolului. Din punct de vedere chimic, mezoinozitolul este un izomer geometric al inozitolului, respectiv, ciclohexanhexolului (hexahidroxiciclohexanului). Considerând că molecula de ciclohexan ar avea cei șase atomi de carbon aproximativ într-un plan, grupările alcoolice se pot orienta de o parte sau de cealaltă parte a planului, rezultând teoretic 8 structuri ale inozitolului, care sunt izomeri geometrici de tip *cis-trans*. Dintre toți izomerii, numai mezoinozitolul sau myo-inozitolul este activ din punct de vedere biologic.



cis-Inozitol



Mezoinozitol

Toți stereoizomerii inozitolului au denumiri specifice.

Proprietăţi şi răspândire. Mezoinozitolul este un compus solid care cristalizează cu două molecule de apă dar, izolat din solvenţi organici, apare anhidru. Se topeşte la 225°C. Este solubil în apă, alcool etilic, acetonă şi insolubil în benzen, cloroform, eter. Are gust dulce. Prezintă bună stabilitate la căldură, chiar în prezenţă de acid clorhidric. Prin oxidare cu permanganat de potasiu se transformă în acid zaharic; la acelaşi produs poate fi oxidat şi pe cale biochimică.

Mezoinozitolul sau mioinozitolul (mezoinozita) se găseşte atât în regnul animal, cât şi în regnul vegetal. În cantitate mai mare se găseşte în embrioni, muguri, frunze tinere. Există şi în seminţe, unde cantitatea scade o dată cu începerea germinării. Se găseşte în toate organele plantelor, fiind descoperit şi în polen (N.Nielesn, 1955). Se mai găseşte în drojdia de bere, lapte de vacă, gălbenuş de ou, mere. Atât în regnul vegetal, cât şi în alimente, cea mai mare parte din mezoinozitol se găseşte ca triester al acidului fosforic, sub formă de sare de calciu sau magnziu, numit fitină.

Cantităţi mai mari de fitină se găsesc în ovăz, orez nedecorticat, porumb, fasole, grâu. O cantitate de 20-60% din fitină se elimină din orgnism, neputând fi scindată.

Rol în organsim. Lipsa mezoinozitolului din hrana animalelor de experienţă determină întârzierea creşterii, scăderea în greutate şi lactaţie, căderea temporară a părului (alopecie); apar dermatite specifice însoţite de căderea părului în jurul ochilor (ochi de monoclu). S-a pus în evidenţă pe cale experimentală acţiunea sa lipotropă. Se găseşte în organism în constituţia unor fosfolipide.

Mezoinozitul este necesar şi organismului omenesc, încât rolul său vitaminic, chiar dacă nu este bine conturat, nu trebuie exclus, ci din contră acceptat. S-a putut pune în evidenţă că celulele umane nu se dezvoltă în mediul semisintetic decât şi în prezenţa mezoinozitolului. Şi în organismul omenesc mezoinozitolul împiedică degenerescenţa grasă a ficatului; favorizează trecerea unor lipoproteide din ficat în marea circulaţie. Stimulează funcţia inimii şi ajută producerea şi eliminarea urinei.

Mezoinozitolul se găseşte în componenţa unor enzime ca, de exemplu, amilaze, fosfataze, chimotripsină şi altele.

După unele cercetări, inozitolul favorizează creşerea peristaltismului stomacal şi intestinal.

Lipsa inozitolului din hrana puilor duce la încetarea creşterii. De asemenea, pentru numeroase microorganisme, mezoinozitul este un important factor de crştere.

Organismul omenesc îşi procură mezoinozitolul prin alimente, apreciindu-se că pe această cale la o dietă de 2500 calorii există aproximativ 1 g inozitol. Necesarul zilnic pentru om nu este încă stabilit.

Prin modificări chimice simple ale structurii mezoinozitolului, proprietăţile sale biologice dispar.

1.3.12. Alte substanţe cu acţiune vitaminică

Se cunosc şi alte substanţe organice care prezintă acţiuni biochimice importante, ceea ce justifică includerea lor în categoria vitaminelor. Deşi unele dintre ele se cunosc de multă vreme, totuşi comportările lor în organismele vii şi mai ales în organismul

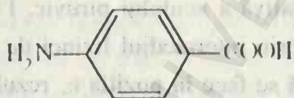
omenesc sunt mai puțin studiate și deci cunoștințele din acest punct de vedere sunt mai modeste.

Din această categorie fac parte: acidul *p*- aminobenzoic, acidul lipoic, colina și altele.

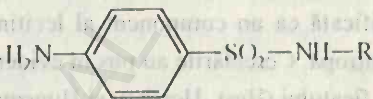
Acidul *p*-aminobenzoic (PABA). A fost obținut de G. Fischer (1863) și mult mai târziu considerat că face parte din grupul vitaminelor B, fiind numit vitamina H_1. I s-a dovedit prezența în hidrolizatele de cazeină și i s-a atribuit rolul de factor de creștere pentru bacteriile lactice (1939). A fost izolat și din drojdie și recunoscut atât ca factor de creștere pentru bacterii (1941), cât și de stimulare a creșterii puiului de găină.

Importanța biologică a acidului *p*-aminobenzoic a crescut după ce Woods și Fildes (1940) au pus în evidență rolul de antimetabolit al sulfamidelor față de acest acid aminic sintetic, cât și datorită prezenței sale în constituția acidului folic.

Acidul *p*-aminobenzoic este o substanță solidă care cristalizează în formă de prisme și se topește la 187°C. Este greu solubil în apă; sărurile sale sunt mai solubile. Este puțin solubil în cloroform.



Prin esterificare apar compuși cu proprietăți anestezice. Prezintă mare analogie structurală cu sulfamidele, ceea ce explică proprietatea acestora de a fi antivitamine H_1.



Acidul *p*-aminobenzoic se găsește în țesuturile animale și umane, în stare liberă sau legat în de unele proteine; se găsește și în structura acidului folic. El protejează acizii grași esențiali și ajută la protecția pielii față de radiațiile solare.

Nu este precizată acțiunea sa vitaminică pentru om și animale. Totuși, carența experimentală la animale a dus la depigmentarea pielii și părului (acromotrichie). S-a constatat că influențează creșterea puilor și lactația la șobolani. Este un factor de creștere pentru unele bacterii și fungi și pentru drojdii. Importanța sa deosebită constă în participarea în componența acidului folic.

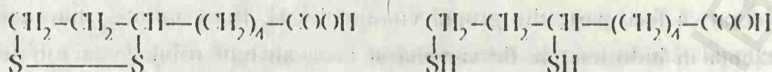
Se consideră că acidul *p*-aminobenzoic poate activa unele enzime (fenolaze) și probabil are și funcție de coenzimă în reacțiile enzimatice de hidroxilare a anilinei și a acidului antranilic. Este stimuator de creștere a rădăcinilor de roșii.

Are unele utilizări terapeutice; folosit în cantități mari duce la reacții toxice. Este util numai în lipsa biotinei în cantitate de 100-200 mg zilnic.

Acidul lipoic. Este cunoscut și sub numele de acid tioctic și a fost izolat sub formă cristalină din extractele de ficat (L. J. Reed și I. G. Gunsalus, 1951). Acțiunea sa de stimulator de creștere a *L.casei* a fost evidențiată anterior (1946).

Includerea sa în categoria vitaminelor se explică prin participarea în calitate de coenzimă la unele procese enzimatice deosebit de importante în metabolismele intermediare.

Din punct de vedere chimic, acidul lipoic este o disulfură ciclică a acidului *n*-octanoic (*n*-caprinic), putând exista și sub formă redusă, ditiolică:



Acid lipoic

Acid dihidrolipoic (acid 6,8-ditiooctanoic)

Este o substanță solidă care cristalizează din ciclohexan în foițe galbene ce se topesc la 47...48°C. Este solubil în benzen și alcool metilic și insolubil în apă. Este optic activ.

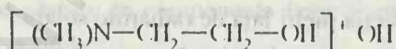
Se găsește în cantități foarte mici în ficat, în unele plante (porumb, soia, roșii) și în drojdie.

Participă la procese de oxidoreducere. Îndeplinește și rol de coenzimă care intervine în decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic. Funcția de coenzimă o exercită după ce acidul lipoic s-a legat prin intermediul lizinei de proteina enzimatică specifică. Legarea acidului lipoic de lizină se face în poziția ε, rezultând ε-N-lipoilizină numită și lipoamidă.

Se consideră că acidul lipoic joacă rolul de acceptor de hidrogen în procesul de fotosinteză.

Colina. A fost identificată ca un component al lecitinei în 1862, fiind apreciată mai târziu ca o substanță lipotropă. Cercetările au pus în evidență proprietatea colinei de a împiedica infiltrarea grasă a ficatului (Best, Hershey și Hunsman, 1932).

Din punct de vedere chimic, colina este hidroxi-trimetilaminoetanol, respectiv hidroxitrimetil-colină:



$$\left[(CH_3)N-CH_2-CH_2-OH\right]^+ OH$$

Este o substanță cristalină, higroscopică, foarte solubilă în apă, insolubilă în eter, cloroform și benzen. Se topește la 243°C. Prin încălzire se descompune ușor, iar prin oxidare se transformă în betaină. Are caracter bazic.

Se găsește în organismele vegetale și animale ca un component al lecitinelor (colinfosfatide); în stare liberă apare în semințe, cartofi, sfeclă etc.; se găsește și sub formă esterificată. Se poate sintetiza în organism prin metilarea aminoetanolului.

În lipsa colinei din alimentația animalelor de experiență crește cantitatea de lipide în ficat, putând apărea și maladii ale acestuia. Importanța colinei pentru organismul omenesc nu este bine stabilită.

Lipsa colinei din alimentația șobolanilor determină pe lângă leziuni hepatice și o degenerescență hemoragică a rinichilor. Apar și tulburări ale lactației și, de asemenea, scăderea producției de ouă la păsări.

Includerea colinei în categoria vitaminelor se explică prin proprietatea ei de a stimula creșterea unor microorganisme. Ea contribuie la formarea de noi celule și la menținerea structurii celulelor, constituind un factor de creștere a animalelor. Este un factor lipotropic, prevenind acumularea de grăsimi în ficat, prin accelerarea oxidării grăsimilor în ficat.

Colina servește ca donator de grupări metilice, favorizând trecerea homocisteinei în metionină, iar în prezența enzimei colinacetilază trece în acetilcolină, substanță de mare importanță în organism.

Animalele în creștere au nevoie de un aport exterior de colină, care poate fi suplinită prin introducerea de metionină. În cazul puilor de găină metionina nu poate suplini în totalitate lipsa colinei.

Colina se folosește în terapia ficatului, a anemiei, a tulburărilor digestive.

2 ENZIME

2.1. Aspecte generale

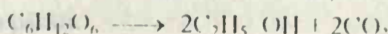
2.1.1. Definiție. Istoric

Enzimele sunt substanțe organice macromoleculare de natură proteică, sintetizate numai de către celula vie, care au proprietăți catalitice, de înaltă specificitate, ce sunt manifestate atât în interiorul celulei, cât și în exteriorul ei. Materia vie este caracterizată printre altele și de o serie neîntreruptă de transformări chimice a tuturor moleculelor, mai simple sau mai complexe, care o alcătuiesc. Aceste transformări se petrec la nivelul celulelor și țesuturilor și pentru fiecare transformare chimică există sau se formează o enzimă specifică, datorită căreia reacția se poate desfășura. Există un număr foarte mare de reacții biochimice și, în consecință, există un număr tot atât de mare de enzime care catalizează aceste reacții în materia vie, motiv pentru care enzimele se consideră adevărați biocatalizatori. Organismele vii nu pot exista fără acești biocatalizatori. Reacțiile catalizate de enzime se denumesc reacții enzimatice.

Reacțiile enzimatice au apărut o dată cu apariția materiei vii și a vieții. Unele transformări calitative ale materii ca, de exemplu, fermentarea sucurilor dulci, acrirea laptelui, fabricarea vinului, fabricarea brânzei și altele sunt transformări enzimatice, observate și folosite de om din cele mai vechi timpuri. Se înțelege că aceste transformări erau folosite în mod empiric; explicațiile științifice ale mecanismelor care guvernează astfel de procese complexe au apărut foarte târziu.

Primele observații asupra unui proces biochimic aparțin naturalistului francez René Antoine Ferchault de Réaumur (1683-1757) care a constatat că sub acțiunea sucului gastric provenit de la ciori are loc dizolvarea cărnii, atât *in vivo* cât și *in vitro*. În 1783, fiziologul L. Spallanzani (1729-1799) a constatat dizolvarea cărnii în stomacul unor animale de experiență, hrănite cu carne special împachetată.

Ocupându-se și de cercetări biochimice, Antoine Laurent Lavoisier (1743-1794) a arătat că prin fermentația glucozei rezultă alcool etilic și dioxid de carbon (1789) și că hidrognul, oxigenul și carbonul din zahărul de plecare se regăsesc în substanțele ce se formează. Plecând de la această observație, Joseph Louis Gay-Lussac (1778-1850) a stabilit cunoscuta reacție a fermentației alcoolice (1810):



$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Date referitoare asupra existenței unor substanțe cu proprietăți speciale, în organismele vegetale, au fost obținute prin cercetările lui Kirchnoff (1812) care a arătat că un extract din orz încolțit are proprietatea de a transforma amidonul în zahăr. Descoperirea și izolarea primei enzime aparține lui Anselme Payen (1795-1871) și Persoz, care au reușit să separe dintr-un extract apos de făină de malț un principiu activ sub forma unei pulberi albe, amorfe, solubilă în apă, insolubilă în alcool concentrat (1833). Această substanță avea proprietatea să zaharifice o cantitate de amidon de 2000 de ori mai mare decât propria ei greutate și a fost numită diastază. Această denumire s-a folosit o perioadă lungă de timp pentru enzimele capabile de a hidroliza amidonul (amilaze).

În anii imediat următori, au fost descoperite și izolate noi enzime; astfel, în 1834, Th. Schwann (1810-1882) a izolat pepsina din stomac, J. Liebig și F. Wöhler au izolat emulsina din migdalele amare (1837), Kuhne a descoperit tripsina din sucul pancreatic (1848), E. Mitscherlich a izolat invertaza (1849), C.Bernard a izolat lipaza (1849), iar A.N. Lebedev a izolat zimaza (1856). În această perioadă de reale progrese în biochimie, Berzelius emite ipoteza conform căreia în organismele vii există substanțe specifice, capabile de a transforma substanțele chimice, introducând noțiunea de *cataliză* în chimie (1835-1837). El a arătat că diastaza din făina de malț catalizează hidroliza amidonului mai eficient decât acidul sulfuric.

Deoarece în desfășurarea proceselor enzimatice aveau loc degajări de dioxid de carbon, deci se petreceau „fierberi" aparente, li s-a dat denumirea de „fermenți" (cuvânt provenit de la latinescul „fermentum") substanțelor necunoscute care provoacă aceste fierberi. (Fenomenul a fost observat prima dată la fermentația vinului, iar termenul de „*fierberea vinului*" se folosește și azi).

Este de subliniat faptul că Cagnard de Latour și in același timp Kützing (1938) considerau că fermentația alcoolică și lactică este datorată activității vitale a celulelor din drogdie (considerate vii), emițându-se astfel *teoria vitalistă a fermentației*. Această părere a fost susținută și de Schwann, iar mai târziu de către Louis Pasteur (1822-1925).

Teoria vitalistă a fermentatiei este sustinută de Pasteur prin lucrarea sa asupra fermentației alcoolice (1857), in care consideră că fermentația este un proces legat de celulele din drojdie, în care există fermenți organizați, a căror activitate este legată de viața celulară. Această părere era în contradicție cu concepția lui Liebig și Wöhler (1839) care considerau că fermentația este o descompunere a zahărului, datorată unor vibrații moleculare generate de prezența unor substanțe ce se găsesc în celulele microorganismelor (fermenți neorganizați), care au activitate fermentativă și în afara celulelor, fiind fermenți solubili. Liebig susține că există fermenți solubili care se pot izola din celula animală.

În 1860, Pierre Eugene Marcelin Berthelot (1827-1907) separă din drojdia de bere o enzimă capabilă de a degrada zahărul și emite părerea că există fermenți solubili, produși de către celule, care după izolare își păstrează activitata caracteristică. Dovada convingătoare asupra activității fermenților rupți de celula vie au adus-o frații

Büchner care, în 1897, au demonstrat că sucuri izolate din drojdie de bere produc fermentația alcoolică tot atât de bine ca și celulele din drojdie. Se infirmă astfel părerea după care există fermenți organizați sau formați, legați inseparabil de celula vie.

Termenul de enzimă, care se folosește cel mai mult, a fost introdus de *Kühne* în 1878, indicând astfel fermenții neformați; el provine din limba greacă, de la cuvântul „enzime" care înseamnă „în drojdii". Astăzi noțiunea de enzimă este identică cu cea de catalizator biologic și presupune o categorie deosebită de substanțe chimice, cu proprietăți catalitice atât în organismul viu cât și în exteriorul său.

Cercetările asupra enzimelor s-au amplificat la începutul secolului XX și mai târziu, o dată cu apariția metodelor fizico-chimice moderne de cercetare. Astfel, în 1920, se cunoșteau mai detaliat aproximativ 15 enzime, iar în 1972 numărul lor ajunge la 1770: dintre acesta circa 500 s-au obținut în stare purificată, determinându-li-se caracteristicile.

Se poate aprecia că astăzi numărul enzimelor cunoscute și caracterizate depășește 2000, dintre care cel puțin 200 au fost obținute în stare cristalină.

2.1.2. Structura enzimelor

Generalități. Din punct de vedere al structurii chimice, enzimele sunt substanțe macromoleculare, de natură proteică, fiind alcătuite numai din α-aminoacizi (în acest caz sunt proteine simple sau holoproteine), sau din α-aminoacizi și alte părți neproteice numite grupări prostetice (și în acest ultim caz sunt proteine conjugate, heteroproteine sau simplu proteide).

Ca și în cazul peptidelor și proteinelor, α-aminoacizii sunt încatenați și în moleculele enzimelor prin legături peptidice -CO-NH-.

Având structură macromoleculară, în mediu apos enzimele au comportări de coloizi macromoleculari, chiar dacă gruparea prostetică le lipsește. Proprietățile coloide ale soluțiilor de enzime sunt identice cu proprietățile soluțiilor de proteine. De altfel, și celelalte proprietăți fizice și chimice ale enzimelor sunt foarte asemănătoare proprietăților proteinelor. Diferența mare între proteinele obișnuite și enzime constă în proprietățile catalitice specifice ale acestora din urmă, datorate unui „centru catalitic activ" (situs activ) care este implicat în activitatea catalitică a macromoleculei-enzimă.

Natura proteică a enzimelor a fost sugerată de M. Traube (1958), care s-a ocupat cu studiul proprietăților diastazei izolată de Payen și Persoz din malț (1833).

Prima părere fundamentată experimental privind structura proteică a enzimelor aparține lui Gabriel Bertrand (1867-1962), care a studiat lacaza obținută din arborele de lac, stabilind că această enzimă este de natură proteică (1894). El consideră că enzimele sunt constituite dintr-o parte chimică care are activitate catalitică, numind-o „complement activ" și o parte de natură coloidală, numită „complement activant". Prima parte are o anumită activitate chimică, în timp ce a doua este lipsită de această activitate, ca adsorbind substratul (substanța asupra căreia enzima își manifestă proprietățile catalitice).

Această părere asupra constituției enzimelor a fost susținută de Harden și Young (1904), care au separat din enzima drojdiei o parte termostabilă, numită coenzimă și o parte coloidală, termolabilă, numită apoenzimă.

Richard Willstätter (1872-1942) a confirmat părerea lui Bertrand enunțând teoria suportului (1923), conform căreia molecula unei enzime este alcătuită dintr-un suport coloidal și o parte activă, aceasta fiind o grupare ce poate să acționeze chimic.

Teoria dualistă a structurii enzimelor a fost generalizată de chimistul suedez Hans Karl von Euler-Chelpin, care denumește ansamblul celor două părți ale unei enzime prin termenul de ***holoenzimă***, aceasta fiind alcătuită dintr-o parte proteică, termolabilă, cu proprietăți coloidale numită *apoenzimă* și dintr-o componentă activă, termostabilă, numită *coenzimă*. Părțile componente, luate separat, nu prezintă activitate enzimatică, dar, împreună, sub formă de holoenzimă, sunt active.

Uneori partea neproteică a holoenzimei (coenzima) mai este denumită și cofactor. Funcția de cofactor este îndeplinită de vitamine hidrosolubile, obișnuit din complexul B, dar poate fi îndeplinită și de unii ioni metalici.

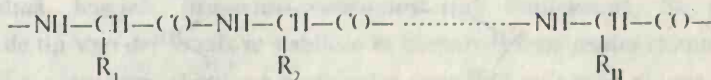
Coenzima determină specificitatea de acțiune a enzimei, influențând viteza reacției catalizate, iar apoenzima selectează substratul asupra căruia va acționa enzima. Coenzima poate fi aceeași pentru mai multe enzime; astfel, piridoxal-5-fosfatul este coenzima aminoaciddecarboxilazei, dar și a transaminazelor.

Prima enzimă obținută în stare cristalină a fost ureaza, extrasă cu apă din fasole de către Sumner (1926). Ulterior, Northrop și Künitz au obținut în stare cristalină pepsina și tripsina (1929), urmând apoi fermentul galben de oxidare, papaina, carboxipeptidaza, tirozinaza, catalaza, unele dehidrogenaze și altele.

Noțiuni generale despre structura chimică a proteinelor. Macromoleculele proteice conțin puține elemente; frecvent apar: C, H, O, N și apoi S. Uneori apar în mică proporție și fosfor, metale și halogeni.

Din hidrolizatele proteice s-au izolat 26 de α-aminoacizi; ordinea încatenării (secvența) aminoacizilor în macromoleculele proteice este foarte diferită, ceea ce duce la apariția unui număr impresionant de materii proteice, diferite.

Cu studiul structurii chimice a proteinelor (inclusiv a enzimelor) s-au ocupat chimistul german Emil Fischer (1852-1919) și F. Hofmeister la începutul secolului al XX-lea (1902). Ei au elaborat teoria polipeptidică a structurii chimice a proteinelor, conform căreia moleculele proteice sunt alcătuite din catene polipeptidice lungi în care resturile de α-aminoacizi sunt unite între ele prin legături peptidice -CO-NH-, formate prin eliminarea unei molecule de apă între grupele $-NH_2$ și -COOH, aparținând moleculelor diferite de aminoacizi. După această teorie, cea mai generală structură a unei proteine se reprezintă în modul următor:



În componența macromoleculelor proteice există un număr mare de unități -OC-CH-NH-, care se găsesc în fiecare α-aminoacid. Aceste unități se deosebesc între ele prin resturile legate de atomul de carbon α. O fracțiune dintr-o catenă polipeptidică formată din alanină, cisteină, acid glutamic, tirozină și lizină, se reprezintă în modul următor:

$$-NH-\underset{CH_3}{CH}-CO-NH-\underset{CH_2-SH}{CH}-CO-NH-\underset{\underset{COOH}{(CH_2)_2}}{CH}-CO-HN-\underset{\underset{C_6H_4-OH}{CH_2}}{CH}-CO-HN-\underset{\underset{NH_2}{(CH_2)_4}}{CH}-CO-$$

În cazul înlănțuirii a mai puțin de 10 aminoacizi apar oligopeptide; dacă acest număr de aminoacizi înlănțuiți este sub 100 apar polipeptide, iar dacă depășește 100 apar compuși macromoleculari proteici.

Indiferent de lungimea catenei polipeptidice, aceasta va avea la un capăt o grupare aminică liberă, iar la celălalt capăt o grupare carboxilică liberă.

Se cere menționată concepția profesorului român Haralamb Vasiliu (1880-1954) asupra structurii chimice a proteinelor, concepție deosebit de modernă, emisă în perioada anilor 1936-1937.

Profesorul Vasiliu admite structura peptidică propusă de Emil Fischer, dar concepe că în macromoleculele proteice există și alte tipuri de legături chimice, în afară de legăturile peptidice ca, de exemplu, legături disulfurice (punți cistinice -S-S-), legături între grupele carboxilice și aminice; iminice sau oxidrilice. H. Vasiliu este primul autor care atribuie moleculelor substanțelor proteice o structură spațială, tridimensională, poliplană, în formă helicoidală.

Ipotezele profesorului Vasiliu, întru totul originale, au fost confirmate prin cercetări ulterioare și apar în concepțiile actuale privind structura chimică a proteinelor, așa cum sunt teoriile moderne ale lui L. Pauling și Corey.

Exceptând legătura peptidică -CO-NH- și legătura disulfurică -S-S-, nu s-a descoperit un alt tip de legătură covalentă între resturile de aminoacizi care alcătuiesc macromoleculele proteice. Legăturile disulfurice prezintă o importanță deosebită pentru proprietățile materiilor proteice în care se găsesc. S-a evidențiat că aceste legături sunt absolut necesare în structura unor compuși biologic-activi, cum sunt enzimele sau hormonul pancreatic (insulina); reducerea lor determină pierderea activității biologice.

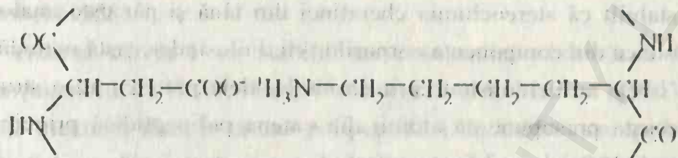
În structura proteinelor, legătura disulfurică se poate găsi între două catene polipeptidice pe care le unește prin covalență (poziție intercatenară), ca în cazul cheratinelor:

```
        NH                         HN
       /                             \
    OC                                CO
       \                             /
        CH—CH₂—S—S—CH₂—CH
       /                             \
    NH                                NH
       \                             /
        CO                         CO
       /                             \
R—CH                                  CH—R
       \                             /
        NH                         NH
       /                             \
```

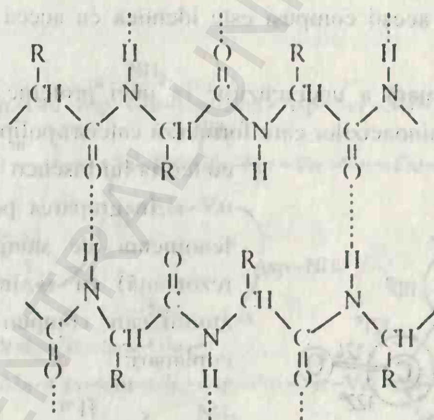
Poziție intercatenară a grupării -S-S- se găsește în insulină și în alți compuși biologic-activi.

În structura chimică a altor proteine gruparea disulfurică se găsește și în poziția intracatenară ca, de exemplu, în moleculele de tripsină, papaină, ribonuclează și altele.

În afară de legătura transversală cistinică, între catenele polipeptidice se pot stabili și legături electrostatice, la care participă grupări acide și bazice ce se găsesc în resturile de acid glutamic, aspartic și arginină sau lizină:



Structura chimică a proteinelor include și formarea legăturilor de hidrogen. Acestea se pot stabili între grupările hidroxilice ce se găsesc în resturile laterale, ca în cazul tirozinei și serinei, ele putând fi intramoleculare (stabilite în cadrul aceleiași catene polipeptidice) sau intermoleculare (stabilite între două catene polipeptidice diferite). Dacă catenele polipeptidice sunt apropiate, se stabilesc punți de hidrogen intermoleculare, prin participarea grupărilor peptidice, conform următoarei scheme:



Formarea punților de hidrogen intramoleculare are loc în cazul în care catena polipeptidică este orientată în spațiu după o spirală (structură α-helix); la stabilirea acestor punți de hidrogen sunt implicate grupările peptidice mai distanțate, între ele găsindu-se cel puțin două resturi de acizi aminici încatenați polipeptidic. Punțile de hidrogen se stabilesc între moleculele multor substanțe biologic-active.

Între resturile laterale nepolare (hidrofobe) ce se găsesc pe catena principală polipeptidică se pot stabili și legături de tip Van der Waals, ca în cazul resturilor de alanină, valină, leucină, izoleucină, metionină sau fenilalanină. Se apreciază că interacțiuni de tip Van der Waals se stabilesc în formarea complexului enzimă-substrat.

Stabilirea structurii chimice a proteinelor constituie un aspect al cercetării chimice dintre cele mai dificile, care necesită o muncă deosebit de laborioasă, implicând: izolarea și purificarea proteinei; determinarea masei moleculare; hidrolize parțiale și identificarea

polipeptidelor rezultate; identificarea calitativă și cantitativă a α-aminoacizilor componenți; determinarea secvenței lor; stabilirea poziției punții cistinice, a conformației spațiale a macromoleculelor și a structurii supramoleculare a compusului analizat.

Studii privind reprezentarea în spațiu a macromoleculelor proteice au fost întreprinse de Herzog și Janke încă din anul 1920. Meyer și Mark au efectuat studii asupra proteinelor fibroase (1928), în special privind reprezentarea spațială a fibroinei.

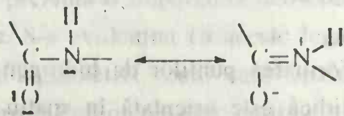
Primele cercetări pe cale röntgenografică a proteinelor aparțin lui Astbury (1930-1935), care a stabilit că stereochimia cheratinei din lână și păr este analoagă cu cea a moleculelor proteice din componența corpurilor vii. Folosind această metodă de cercetare, Pauling și Corey au demonstrat că macromoleculele proteice au o structură spațială helicoidală. Aceasta presupune că atomii din catena polipeptidică principală se găsesc dispuși după o spirală în plane diferite.

Studiile röntgenografice au dus la concluzia că se pot distinge patru nivele de organizare a macromoleculelor proteice. Acestea au fost denumite structuri primare, secundare, terțiare și cuaternare. Pentru ultimele trei, denumirea de conformație ar fi mai corectă decât cea de structură. Astfel de structuri, respectiv de conformații, sunt proprii și enzimelor.

Structura primară a enzimelor. Enzimele sunt compuși proteici; definiția structurii primare pentru acești compuși este identică cu aceea care definește structura primară a enzimelor.

Prin structura primară a unei enzime (a unei proteine în general) se înțelege numărul și secvența α-aminoacizilor care formează catena polipeptidică, în conformitate cu teoria lui Fischer.

În gruparea peptidică -CO-NH- apare fenomenul de conjugare (o structură de rezonanță) ca și în cazul amidelor, încât atomii care compun legătura peptidică sunt coplanari:



Datorită structurii tetraedrice a atomului de carbon din poziția α și a unghiurilor de valență dintre atomi, resturile laterale ale aminoacizilor sunt orientate alternativ, de o parte și de alta a planurilor determinate de legăturile peptidice, iar catena principală polipeptidică apare sub formă de zig-zag (fig.2.1). Într-o catenă polipeptidică perioada de identitate este de 7,23 Å. Prin

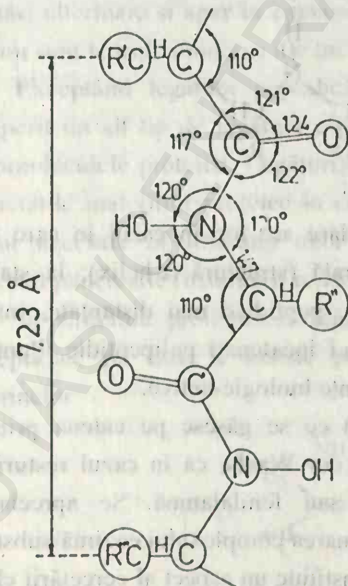


Fig. 2.1. Catenă polipeptidică extinsă.

perioada de identitate se înțelege distanța pe care se întind două resturi de aminoacid.

Structura primară a unor proteine și a multor ezime a fost pe deplin elucidată.

Obținerea enzimelor în stare cristalină și metodele moderne de cercetare în chimia proteinelor aü constituit condițiile necesare pentru determinarea secvenței aminoacizilor în macromoleculele proteice. În acastă direcție trebuie subliniată cercetarea de pionierat a lui F. **Sanger** și colaboratorilor, care au reușit să determine secvența aminoacizlor din componența insulinei, prin aceasta stabilindu-i structura chimică (1952), realizare distinsă cu premiul Nobel (1958).

Prima enzimă căreia i s-a stabilit secvența aminoacizlor a fost ribonucleaza, realizarea aparținând lui C. H. W. **Hirs**, W. H. **Stein** și S. **Moore** (1961), care au arătat că aceasta este alcătuită dintr-o catenă polipeptidică, în a cărei componență există 124 α-aminoacizi. Ribonucleaza acționează hidrolitic asupra acidului ribonucleic (ARN), depolimerizându-l.

În structura ribonucleazei există patru legături -S-S- unind resturi de cisteină, indispensabile activității sale enzimatice. La un capăt al moleculei există lizina cu grupa $-NH_2$ liberă, iar la celălalt capăt este valina cu grupa -COOH liberă, așa cum se observă și din fig. 2.2., care reprezintă înlănțuirea aminoacizilor în ribonuclează. O parte din catena acestei enzime are o conformație spațială de elice (α-helix), reprezentând circa 40-50% din întreaga moleculă.

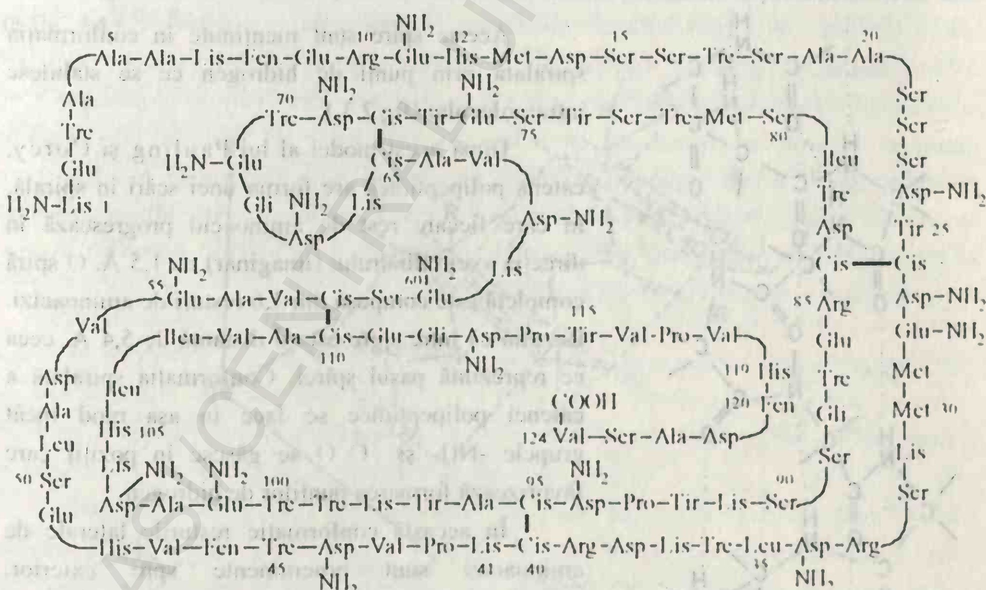


Fig. 2.2. Catenă polipeptidică a ribonucleazei.

Din pancreasul bovinelor s-a izolat în stare cristalină carboxipeptidaza A, enzimă ce catalizează hidroliza legăturilor peptidice care se găsesc la capătul catenei cu gruparea carboxilixă liberă. Această enzimă este o zinc-proteină în a cărei componență există 300 de aminoacizi. În structura moleculei există o legătură -S-S- și 10 punți de hidrogen; 35% din moleculă are conformație spațială α-helix (V.N. Lipscomb și colaboratorii 1970),

20% se găsește sub formă de structură pliată și 45% prezintă o structură dezordonată (random-coil). Aminoacizii din componeța enzimelor a căror structură primară este cunoscută au configurația L.

Structura secundară a enzimelor. Această structură este determinată de aranjarea în spațiu a catenei polipeptidice macromoleculare și a legăturilor de hidrogen care se stabilesc intermolecular sau intramolecular.

Un exemplu de structură secundară îl constituie aranjarea în spațiu a catenei polipeptidice din care este alcătuită enzima în formă de spirală (helicoidală), ca în cazul α-cheratinei, sau în formă extinsă, ca în cazul β-cheratinei. Astfel de structuri au fost puse în evidență pe cale röntgenografică de Astbury în cazul proteinelor fibroase, ele constituid modele și pentru alte proteine, inclusiv cele enzimatice.

În structura α-helix, catena polipeptidică se concepe înfășurată pe suprafața unui cilindru, încât apare sub forma unei spirale. În funcție de orientarea catenei, forma helicoidală poate fi elice α-dreapta, dacă are sensul unui șurub cu pasul spre dreapta, sau elice α-stânga, când forma helicoidală are sensul unui șurub cu pasul spre stânga. Spirele elicei sunt formate din succesiunea atomilor:

—N—C—C—N—C—C—
(cu C=O la al doilea și al șaselea atom)

Aceste spire sunt menținute în conformația spiralată prin punți de hidrogen ce se stabilesc intramolecular (fig.2.3.).

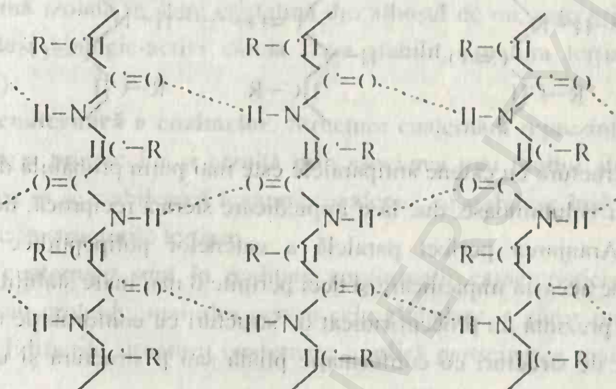
După acest model al lui Pauling și Corey, catena polipeptidică are forma unei scări în spirală, în care fiecare rest de aminoacid progresează în direcția axei cilindrului (imaginar) cu 1,5 Å. O spiră completă este compusă din 3,6 resturi de aminoacizi. Rezultă că între spire este o distanță de 5,4 Å, ceea ce reprezintă pasul spirei. Conformația spiralată a catenei polipeptidice se face în așa mod încât grupele -NH- și C O se găsesc în poziții care favorizează formarea punților de hidrogen.

În această conformație resturile laterale de aminoacizi sunt proeminente spre exterior. Diametrul elicei este de 10,5Å, iar diametrul cilindrului interior (imaginar) format numai din catena polipeptidică este puțin mai mare de 4Å.

Conformația spiralată conferă macromoleculelor proteice o elasticitate deosebit de ridicată. Macromoleculele enzimelor prezintă un procent ridicat de conformație α-helix.

Fig. 2.3. Structura helicoidală.

Un alt tip de structură secundară proprie proteinelor și enzimelor este conformația β sau structura β pliată. În această structură catenele polipeptidice au orientare paralelă și sunt unite prin legături de hidrogen, stabilite între grupele -CO- și -NH- aparținând catenelor diferite. Catenele polipeptidice, fiind în formă de zig-zag, favorizează legarea prin punți de hidrogen a fiecărei catene de celelalte două catene vecine, determinând astfel apariția unei „grile polipeptidice", care este încrețită. Resturile R ale aminoacizilor încatenați se găsesc alternativ de o parte și de alta a catenei polipeptidice:



Repartizarea structurii pliate pentru conformația secundară a proteinelor este dată în fig. 2.4.

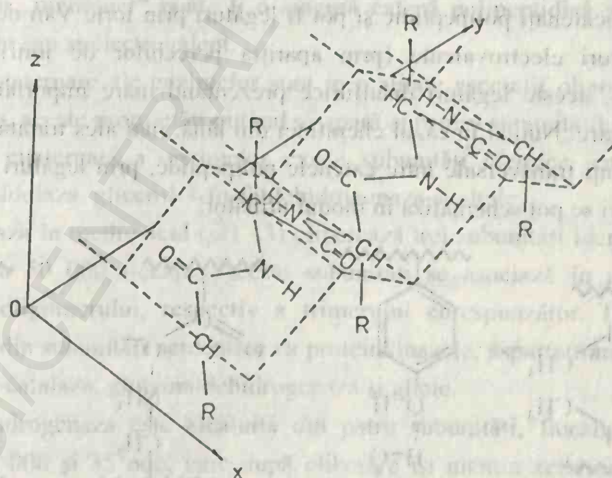
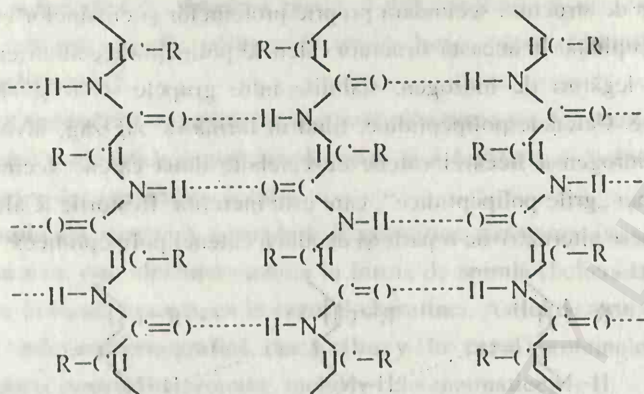


Fig. 2.4. Structura pliată.

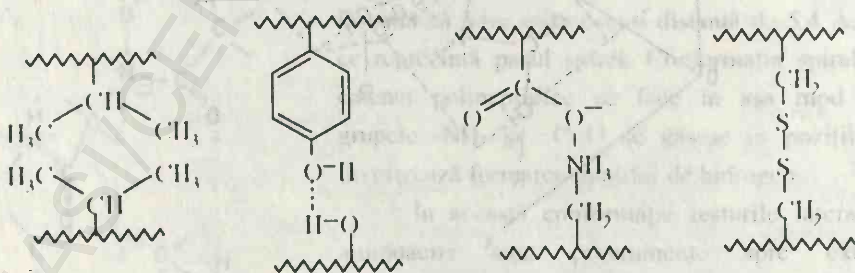
Se poate concepe o structură secundară în care catenele polipeptidice sunt antiparalele ca în schema următoare:



Această structură cu catene antiparalele este mai puțin probabilă deoarece catenele laterale R, uneori voluminoase, duc la o împiedicare sterică reciprocă, deci la o structură mai nestabilă. Aranjarea perfect paralelă a catenelor polipeptidice într-o structură secundară exclude această împiedicare și deci permite o mai mare stabilitate.

Enzimele prezintă un procent ridicat de structuri cu conformație α-helicoidală; un procent mai mic de structuri cu conformație pliată sau β structură și un alt procent de structuri dezordonate (random-coil).

Structura terțiară a enzimelor. În structura terțiară catenele polipeptidice ale enzimelor sunt unite prin legături transversale, conformația α-helicoidală a catenelor menținându-se. Lgăturile transversale se stabilesc prin resturile laterale (R) ale aminoacizilor încatenați polipeptidic și pot fi legături prin forțe Van der Waals, punți de hidrogen, legături electrovalente (prin apariția perechilor de ioni) și prin legături covalente -S-S-, aceste legături disulfurice prezentând mare importanță în menținerea structurilor terțiare. Numai în cazul cheratinei din lână, mai ales tratată în mediu alcalin, se formează punți transversale între catenele polipeptide, prin legături tioeterice. Aceste tipuri de legături se pot schematiza în modul următor:



Structurile terțiare sunt caracteristice și s-au pus în evidență pentru proteinele globulare; cele mai multe enzime, în stare naturală, sunt proteine globulare. Prezența unui număr mare de legături transversale, în prezența conformațiilor helicoidale ale catenelor polipeptidice, însoțite și de structura pliată, determină o structură supramoleculară mai compactă. Deoarece resturile nepolare ale aminoacizilor sunt orientate înspre interiorul structurii compacte, prezența moleculelor de apă în interiorul acestei structuri este foarte

limitată, moleculele de apă putându-se asocia doar cu grupările -OH, -COO⁻ și $-NH_3^+$ care sunt deja angajate reciproc. În procesul catalitic al enzimelor unele legături necovalente se desfac și funcțiile chimice eliberate contribuie la legarea enzimei de substrat.

Cercetările röntnografice au favorizat stabilirea structurilor terțiare, în afară de hemoglobină, și pentru o serie de enzime cum sunt: ribonucleaza, chimotripsina și chimotripsinogenul, muramidaza, papaina, carboxipeptidaza A, citocromul C și altele. Muramidaza, enzimă izolată în stare cristalină din albușul de ou, este prima din această categorie de produși biologic-activi căreia i s-a stabilit structura terțiară (Phillips și colaboratorii 1965).

Structura cuaternară a enzimelor. Structura cuaternară reprezintă cel mai înalt nivel de organizare a proteinelor și rezultă prin asocierea mai multor structuri terțiare, fără ca între acestea să se stabilească legături covalente; se stabilesc însă celelalte tipuri de legături întâlnite în structurile terțiare.

Structurile cuaternare sunt în realitate conformații caracteristice numai pentru anumite proteine sau proteide, mai ales pentru cele globulare, a căror masă moleculară depășește 50 000. Edificiile structurii cuaternare implică participarea mai multor catene polipeptidice.

Enzimele, ca proteine globulare, se caracterizează prin existența lor în structuri cuaternare, formate din mai multe subunități, numite monomeri sau protomeri, unite între ele prin diferite legături necovalente. Din agregatul cuaternar monomerii pot fi eliberați. În componența unui „monomer" poate fi o singură catenă polipeptidică sau pot fi mai multe, unite covalent sau și electrovalent.

Structurile cuaternare ale enzimelor sunt în realitate asociații oligomere, care au proprietăți biologice, aceste proprietăți putând să apară și pentru subunitățile separate.

În structura cuaternară a enzimelor există subunități identice, ca de exemplu fosfataza alcalină, aldolaza, glicerol-3-fosfatdehidrogenaza și altele.

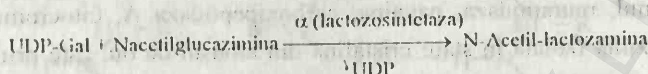
Astfel, aldolaza în mediu acid (*p*H <3) eliberează trei subunități identice, cu masa moleculară de circa 50 000 fiecare. Aceste subunități se asociază în mediu neutru, formând structura oligomerului, respectiv a trimerului corespunzător. Există enzime oligomere alcătuite din subunități neidentice ca proteinkinazele, aspartattranscarbamilaza, fructozodifosfataza, catalaza, glutamatdehidrogenaza și altele.

Glutamatdehidrogenaza este alcătuită din patru subunități, fiecare având masa moleculară între 25 000 și 35 ooo, care după eliberare își mențin activitatea catalitică. Prin tratare cu uree sau în alte condiții, aceste subunități cu greutatea moleculară mare disociază în subunități identice, fiecare cu masa moleculară de 40 000 și inactive biochimic.

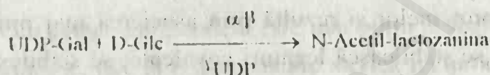
Se poate aprecia că structurile cuaterare ale enzimelor reprezintă conformații supramoleculare proteice, caracterizate printr-un grad specific de organizare și deosebită complexitate chimică.

Importanța acestui grad de organizare al proteinelor constă în: 1) economisirea de material genetic; 2) scăderea posibilității de apariție a erorilor în procesul de transcriere al

materialului genetic; 3) asigurarea unei stabilități crescute a enzimelor (deoarece ele răspund rapid și adecvat modificărilor de mediu) și 4) apariția unor variații în activitatea catalitică a enzimelor. În acest sens, putem da exemplul **lactozosintetazei** care prezintă în structura sa două tipuri de subunități (α și β); din punctul de vedere al structurii primare izolate, s-a constata că subunitatea β (lactalbumina) nu prezintă activitate catalitică în schimb, subunitatea α are funcție catalitică de galactoziltransferază, catalizând reacția:



Prin asamblarea celor două subunități, enzima prezintă activitatea lactozo-sintetazică:



Forme moleculare multiple ale enzimelor. Precursori enzimatici

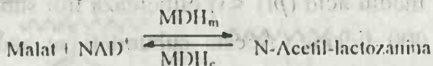
Forma moleculară multiplă este un concept apărut în 1972, dat moleculelor proteice diferite, separate prin electroforeză sau cromatografie din aceeași specie, care catalizează aceeași reacție și care se deosebesc între ele prin masă moleculară, încărcare electrică netă, afinitate pentru substrat(uri), specificitate pentru substrat și prin constante cinetice.

Enzimele omoloage sunt proteine diferite, catalizează aceeași reacție, dar sunt izolate din surse biologice diferite. Se cunosc următoarele tipuri de formule moleculare diferite:

a) *Proteine genetic independente* sau izoenzime (codificate de gene diferite).

Exemplu: în genom există 2 gene *c* și *m* care codifică 2 proteine diferite, ele având funcții diferite în ficat.

Este cazul malat-dehidrogenazei care catalizează reacția:



Cele două proteine cu aceeași funcție catalitică au localizări diferite: una în citosol, cealaltă în mitocondrie. Enzima din citosol transformă preferențial oxaloacetatul în malat, cealaltă (din mitocondrie) catalizează reacția inversă: malat ⟶ oxaloacetat.

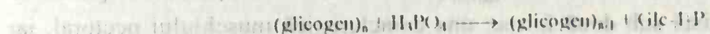
Prin intermdiul acestor două forme de malatdehidrogenază se realizează un mecanism suveică de penetrare a energiei reducătoare prin membrana mitocondrială care nu e permeabilă pentru NAD^+ sau $NADH, H^+$, însă permite trecerea malatului și oxaloacetatului.

b) *Heteropolimeri (hibrizi)* proveniți din două sau mai multe catene polipeptidice legate necovalent .

c) *Variante genetice.* Datorită unei mutații a unei gene ce codifică o anumită secvență polipeptidică pot apărea modificări ușoare în structura secvenței polipeptidice.

Cele două enzime au aceeași activitate enzimatică, deoarece modificarea structurală nu a avut loc la nivelul resturilor de aminoacizi din centrul catalitic activ.

d) *Proteine conjugate cu diferite grupări.* Glicogenfosforilaza prezintă două forme *a* și *b* cu structuri diferite și viteză de scindare diferită a reacției:



$$(glicogen)_n + H_3PO_4 \longrightarrow (glicogen)_{n-1} + Glc\text{-}1\text{-}P$$

Forma *b* are o structură dimeră , fiecare subunitate având un rest de Ser, și este foarte puțin activă în procesul de scindare. Forma *a* este foarte activă și se formează din forma *b*, prin fosforilarea resturilor de Ser și agregarea a două structuri cu formarea unei proteine cu structură tetrameră. Cele două forme s-au identificat pe baza diferenței de masă moleculară (dimer și tetramer) și a încărcăturii electrice diferite (tetramerul are și 4 sarcini electrice negative).

e) *Proteine derivate de la aceeași catenă polipeptidică.* Acest caz apare la enzimele biosintetizate sub formă de precursori enzimatici inactivi.

În procesul de activare au loc ruperi de catene polipeptidice din molecula precursorului soldate cu o modificare conformațională și cu constituirea centrului catalitic activ.

Exemplu: chimotripsogen ⟶ chimotripsină

f) *Forme polimere ale aceleiași catene polipeptidice.* Apar în cazul în care după biosintetizarea unei catene polipeptidice acestea suferă modificări constând în dimerizare, trimerizare etc.

g) *Conformeri enzimatici* apar la enzimele alosterice (a căror activitate e modulată prin intermediul efectorilor sau modulatorilor).

Se recomandă folosirea denumirii de *izoenzime* numai pentru formele moleculare multiple genetic independente.

Izoenzime. Izoenzimele se pot defini ca forme moleculare cu structuri apropiate, dar neidentice, care au aceeași activitate catalitică, dar care se diferențiază prin proprietățile lor fizico-chimice. Aceste diferențieri se concretizează prin termostabilitate, *p*H optim de acțiune, prin migrare în câmpul electroforetic, comportare diferită la cromatografiere, sensibilitate diferită față de inhibitori.

C. Markeret și F. Moller studiind comportarea electroforetică a lactat-dehidrogenazei, obținută din țesuturi umane și de șoarece, au constatat că produsul biologic-activ este heterogen, adică este alcătuit din fracțiuni ce se comportă diferit la electroforeză. S-a tras concluzia că lactatdehidrogenaza este alcătuită din mai multe forme de molecule, care au structuri proteice diferite.

Din numeroase cercetări, s-a ajuns la concluzia că pot fi considerate izoenzime numai acele enzime care au aceeași funcție catalitică și provin din acelați organism, având înrudire din punct de vedere structural. Apar deci trei condiții care se cer îndeplinite pentru a putea defini noțiuna de izoenzimă: proveniența din acelați organism, aceeași acțiune catalitică și înrudire structurală.

Se consideră că apariția izoenzimelor se explică prin diferențierile ce se ivesc la nivelul structurilor cuaternare, adică a legăturii diferite a subunităților structurale polipeptidice, ce sunt neidentice. Formarea lor în organism este determinată genetic, respectiv genele reglează sinteza lor.

Studiile efectuate asupra lactatdehidrogenazei izolată din puiul de găină au demonstrat că aceasta există sub două forme: una caracteristică mușchiului pectoral, iar alta caracteristică mușchiului inimii.

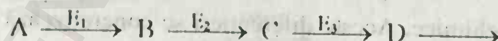
Lactat-dehidrogenaza existentă în organismul altor specii de animale se găsește în cinci forme diferite. Această enzimă este tetrameră, fiind alcătuită din patru catene polipeptidice, aparținând la două tipuri: M și H. Catena M se găsește în mușchiul striat, iar catena H se găsește în mușchiul inimii, sinteza lor fiind realizată de către două gene diferite. Cele cinci forme ale enzimei au structurile: M_4; M_3H; M_2H_2; MH_3 și H_4. Aceste structuri alcătuite din catene identice sau diferite sunt izoenzime. În sperma unor animale s-a pus în evidență și o a șasea izoenzimă din această serie.

În creier, inimă, rinichi, unde procesele metabolice oxidative sunt mai intense, predomină izoenzima H_4, iar în țesuturile cu mecanism glicolitic mai intens cum sunt mușchii scheletici, predomină izoenzima M_4.

Izoenzimele prezintă interes pentru întreaga sferă biologică, ele fiind prezente atât în organismele animale, cât și în cele vegetale și în microorganisme. Unele izoenzime prezintă interes clinic, distribuția lor în organism fiind în corelație cu starea fiziologică a țesutului căruia le este caracteristică.

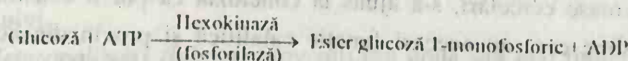
Agregate enzimatice (sau sisteme multienzimatice). Agregatele enzimatice pot fi definite ca structuri supramoleculare complexe, alcătuite din două sau mai multe enzime a căror funcție catalitică este interdependentă. Fiecare enzimă din agregat manifestă acțiunea catalitică specifică, dar în cadrul unor transformări ce se condiționează prin produsele noi de reacție apărute care constituie substratul pentru alte enzime din agregat.

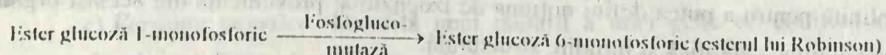
Dacă se presupune șirul de reacții enzimatice:

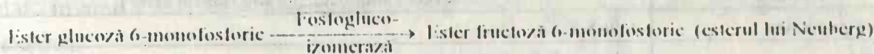


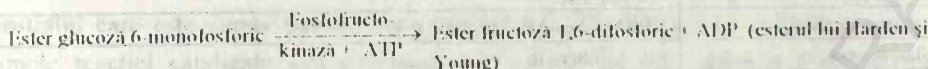
unde enzimele E_1, E_2 și E_3 intervin asupra substraturilor A, B, C, substanța B rezultată prin acțiunea enzimei E_1 este substratul asupra căruia va interveni enzima E_2 și așa mai departe.

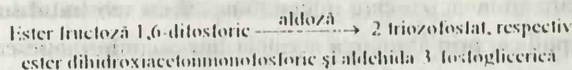
Se cunosc mai multe agregate enzimatice care intervin catalitic în procesele metabolice. În cazul transformării glucozei în trioze, intervine agregatul enzimatic alcătuit din cinci enzime, procesul putând fi schematizat în modul următor:











Centre catalitic-active ale enzimelor. Centrele active enzimatice se definesc ca regiuni mici, bine delimitate, din componenţa enzimei care participă la actul propiu-zis al catalizei. Aceste regiuni se mai denumesc şi situsuri catalitice, de care se fixează substratul, formând complexul activ *enzimă-substrat* ca primă etapă a procesului enzimatic.

Pentru enzimele în a căror componenţă există numai aminoacizi, catenele active sunt alcătuite din aminoacizi situaţi în apropiere sau mai distanţaţi, însă grupaţi pe o suprafaţă cu un diametru de 10-30Å.

Ezimele binare, deci cu structură heteroproteidică, îşi desfăşoară activitatea catalitică şi prin gruparea prostetică din componenţa lor, fără a fi exclus situsul catalitic din componenţa proteică. Centrul activ al acestor enzime este mai larg, el fiind alcătuit din situsul catalitic plus coezima şi eventual atomii metalici existenţi.

Aminoacizii care alcătuiesc centrele active se pot găsi în mai multe catene polipeptidice, care trebuie să fie apropiate, încât enzima să-şi meţină structura terţiară intactă.

Un centru activ nu poate fi alcătuit dintr-un singur aminoacid, ci dintr-o secvenţă de 3-6 amioacizi, plasaţi într-o anumită poziţie din structura terţiară a enzimei. Aceste resturi de aminoacizi formează o geometrie spaţială ordonată, la nivelul căreia se exercită proprietatea catalitică a enzimei, interacţionând cu moleculele substratului. De regulă, gruparea de aminoacizi care formează zona catalitică se găseşte în porţiunea internă, hidrofobă a enzimei unde interacţiunile chimice dintre substrat şi enzimă sunt favorizate.

Prin denaturare, activitatea catalitică a enzimei dispare, configuraţia centrului activ fiind modificată. Dacă denaturarea este reversibilă şi cauzele care au produs denaturarea sunt îndepărtate, centrul activ poate să-şi redobândească structura anterioară.

În mod obişnuit, aminoacizii din centrele catalitic-active enzimatice au grupări polare libere, cum sunt: -OH, -COOH, -SH, $-NH_2$ sau un rest de imidazol. Toate aceste grupări sunt bogate în electroni şi apare logic ca ele să participe la stabilirea unor legături dintre enzimă şi substrat. În componenţa grupului de aminoacizi care alcătuiesc centrele active se găseşte frecvent serina, reactivitatea ei fiind influenţată de unii aminoacizi adiacenţi. În continuare se dau câteva exemple de asemenea grupuri de aminoacizi (centre active):

Enzima	Secvența aminoacizilor din centrul activ
Carboxipeptidaza	Glu-Ser-Tir
Tripsină	Gli-Asp-Ser-Gli-Pro-Val
Chimotripsină	Gli-Asp-Ser-Gli
Fosfataza alcalină	Tre-Asp-Ser-Ala-Ala
Colinesterază	Gli-Asp-Ser-Gli

În cazul în care aminoacizii care interacționează cu substratul sunt mai îndepărtați într-o catenă polipeptidică, prin aranjarea acesteia într-o conformație corespunzătoare, se determină apropierea lor, care duce la un contact mai strâns sau mai eficace între funcțiile chimice ale acestor aminoacizi, încât pot rezulta situsuri catalitice, condiționate de conformația enzimei.

Aminoacizii din constituția situsului catalitic au funcții diferite față de ceilalți aminoacizi din componența macromoleculei enzimatice. Se disting următoarele categorii de aminoacizi din componența unei enzime, în funcție de participarea lor la interacțiunile stabilite între enzime și substrat:

a) aminoacizi de contact, care formează situsul catalitic și determină transformara biochimică a substratului. Prin grupele lor funcționale libere ei stabilesc interacțiuni cu molecula-substrat prin punți de hidrogen sau electrostatice; joacă rol de donatori sau acceptori de electroni sau protoni în mecanismul biocatalitic al reacției;

b) aminoacizi conformaționali ce se găsesc la diferite distanțe față de centrul activ, nu sunt implicați direct în legarea substratului dar au rol în determinarea unei conformații necesare pentru desfășurarea unui anumit proces biocatalitic;

c) aminoacizi auxiliari ce permit o anumită flexibilitate zonelor adiacente situsului catalitic; ei nu participă la interacțiunile dintre enzimă și substrat, dar favorizează aceste interacțiuni prin efectele pe care le induc;

d) aminoacizi neesențiali care formează grupări indiferente ce nu au nici un rol în interacțiunea dintre enzimă și substrat; ei pot fi îndepărtați fără ca activitatea enzimei să fie perturbată. Se cunoaște că un procent notabil din aminoacizii componenți ai papainei pot fi îndepărtați fără ca enzima să-și piardă proprietățile biocatalitice. Prezența lor determină proprietățile enzimei (solubilitate, stabilitate în soluție etc.)

Pe cale chimică se poate identifica centrul activ al enzimelor și determina structura sa.

2.1.3. Nomenclatura și clasificarea enzimelor

Se cunoaște un număr mare de enzime cu proprietăți catalitice caracteristice, număr care este în continuă creștere, ceea ce a determinat o clasificare rațională a acestor compuși biologic-activi și o nomenclatură care să sugereze acțiunea catalitică a enzimei și eventual natura substratului asupra căruia acționează.

Nomenclatura și clasificarea enzimelor s-a făcut de către Comisia de Enzimologie, organ care își desfășoară activitatea în cadrul Uniunii Internaționale de Biochimie, și

adoptate în anul 1961, cu ocazia celui de-al V-lea Congres Internațional de Biochimie de la Moscova.

Denumirea enzimei trebuie să reflecte tipul de reacție pe care îl catalizează și substratul care este supus transformării enzimatice. Prin adăugarea sufixului „-ază" la numele reacției catalizate sau a substratului, rezultă numele enzimei respective. De exemplu, enzima care catalizează hidroliza maltozei se va numi „maltază" sau enzimele ce acționează hidrolitic se vor numi „hidrolaze", enzimele care catalizează transformarea grupărilor metilice se vor numi „transmetilaze", enzimele care acționează asupra lipidelor se vor denumi „lipaze". Folosind denumiri combinate se poate indica mai precis acțiunea catalitică a enzimelor, de exemplu: lactatdehidrogenaza este enzima care catalizează reacția de dehidrogenare a acidului lactic, sau tirozinhidroxilaza este denumirea enzimei care catalizează hidroxilarea tirozinei la DOPA.

Unele denumiri mai vechi s-au păstrat și se folosesc în prezent, fără a respecta indicațiile Comisiei de Enzimologie. Astfel, denumirile de pepsină, tripsină, chimotripsină (care în realitate sunt proteinaze) se folosesc curent, ele fiind cunoscute înaintea apariției regulilor generale de nomenclatură a enzimelor.

Clasificarea enzimelor nu se poate face după structura lor chimică, deoarece aceasta este încă necunoscută pentru multe enzime, iar o clasificare care să reflecte prezența coenzimei este de asemenea dificilă, deoarece există enzime care nu conțin părți neproteice în calitate de coenzimă și, pe de altă parte, există enzime diferite care conțin aceeași grupare prostetică în calitate de coenzimă.

Comisia de Enzimologie a propus drept criteriu de clasificare a tuturor enzimelor tipul de reacție care este catalizat, rezultând astfel șase clase mari de enzime:

1. Oxidoreductaze
2. Transferaze
3. Hidrolaze
4. Liaze
5. Izomeraze
6. Ligaze sau sintetaze

Fiecare din aceste clase principale este alcătuită din subclase și sub-subclase. Aceste denumiri sunt foarte sugestive. Se deduce ușor că oxidoreductazele catalizează reacții de oxidoreducere; transferazele sunt enzime care catalizează transferul unor grupări de atomi de la o moleculă la alta, conform schemei:



$$R\text{-}A + R'\text{-}B \rightleftharpoons R\text{-}B + R'\text{-}A$$

Din categoria transferazelor fac parte următoarele enzime: transmetilaze, transacilaze, transglicozidaze, transaminaze și altele.

Hidrolazele catalizează reacția de hidroliză:



$$R\text{-}R' + HOH \rightleftharpoons R\text{-}H + R'\text{-}OH$$

Legătura scindată hidrolitic poate fi: C-O; C-N; P-N; C-S; C-C și altele. Din această categorie fac parte: esteraze, peptidaze, sulfataze, polizaharidaze, amidaze etc.

Liazele sunt enzime care produc ruperi ale moleculelor sau adiții fără a fi implicate reacții de hidroliză sau oxidoreducere. Din această categorie fac parte carboxilazele care

catalizează eliminarea dioxidului de carbon din acizii α-cetonici, formându-se aldehide, dehidratazele care catalizează reacția de eliminare a apei cu formare de duble legături etc.

Izomerazele catalizează reacții de izomerizare, fie a izomerilor geometrici, fie a izomerilor din seria D și L. Din această categorie fac parte fosfohexozoizomeraza, fosfomutazele, racemazele, transferazele intermoleculare etc.

Ligazele sau sintetazele catalizează reacțiile de formare a noi legături C-C; C-O; C-N; C-S; ele sunt deci implicate în reacții de formare a noii molecule.

Pentru o încadrare mai precisă a enzimelor în clase și subclase, Comisia de Enzimologie a propus un sistem de codificare, astfel încât numărul de cod să indice poziția enzimei în sistemul de clasificare. Numărul de cod al fiecărei enzime este alcătuit din patru cifre, care au următoarea semnificație:

prima cifră arată cărei clase, din cele șase clase principale indicate anterior, aparține enzima respectivă. Ordinea și numerele indicate anterior sunt obligatorii și ele se găsesc în toate cărțile de specialitate, neschimbate;

a doua cifră indică subclasa, ca aducând și precizări referitoare la natura substratului și a grupărilor chimice ale substratului precum și tipul de legături chimice asupra cărora enzima acționează. De exemplu, clasa principală -Oxidoreductaze - are prima cifră de cod 1; subclasa 1 grupează acele oxidoreductaze care acționează asupra grupării CH-OH. Subclasa 2 grupează oxidoreductazele care acționează asupra grupărilor aldehidice sau cetonice;

a treia cifră indică sub-subclasa, aducând detalii suplimentare asupra reacției catalizate;

a patra cifră reprezintă un număr de ordine sau poziția pe care enzima o are - ca individ chimic catalitic - în subclasa respectivă. De exemplu, enzima numită lactat-dehidrogenază aparține clasei principale 1, subclasa 1, sub-subclasa 1 și are poziția 27; numărul ei de cod va fi deci: 1.1.1.27. Pe lângă cele patru numere de cod, pentru fiecare enzimă se indică înaintea numărului de cod abrevierea EC (Enzyme Comission); astfel codul enzimei EC 1.1.1.27 arată că ea face parte din clasa principală oxidoreductaza, acționează asupra grupării CH-OH, sub-subclasa 1 care are ca acceptor de hidrogen coenzima NAD^+ și numărul de ordine 27. Deci denumirea codificată, integrală, va fi: E.C. 1.1.1.27 Lacto-NAD^+ oxidoreductaza.

Mai jos se prezintă clasificarea și codificarea enzimelor, în conformitate cu criteriile expuse anterior și care sunt în vigoare.

Clasificarea și codificarea enzimelor

1. *Oxidoreductaze*

1.1. Enzime care acționează asupra grupării CH-OH a donorului

1.1.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.1.2. Cu citocromi ca acceptori

1.1.3. Cu O_2 ca acceptor

1.1.99. Cu alți acceptori

1.2. Enzime care acționează asupra grupării carbonil a donorilor

1.2.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.2.2. Cu citocromi ca acceptori

1.2.3. Cu O_2 ca acceptor

1.2.4. Cu acidul lipoic ca acceptor

1.2.99. Cu alți acceptori

1.3. Enzime care acționează asupra grupării CH-CH a donorilor

1.3.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.3.2. Cu citocromi ca acceptori

1.3.3. Cu O_2 ca acceptor

1.3.99. Cu alți acceptori

1.4. Enzime care acționează asupra grupării CH-NH_2 a donorilor

1.4.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.4.3. Cu O_2 ca acceptor

1.4.4. Cu un compus disulfuric ca acceptor

1.4.99. Cu alți acceptori

1.5. Enzime care acționează asupra grupării CH-NH- a donorilor

1.5.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.5.2. Cu O_2 ca acceptor

1.5.99. Cu alți acceptori

1.6. Enzime care acționează asupra NADH sau NADPH

1.6.1. NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.6.2. Cu citocromi ca acceptori

1.6.4. Cu un compus disulfuric ca acceptor

1.6.5. Cu drinone sau compuși asemănători ca acceptor

1.6.6. Cu o grupare cu azot ca acceptor

1.6.99. Cu alți acceptori

1.7. Enzime care acționează asupra altor compuși cu azot ca donori

1.7.2. Cu citocromi ca acceptor;

1.7.3. Cu oxigen ca acceptor

1.7.99. Cu alți acceptori

1.8. Enzime care acționează asupra unei grupări cu sulf a donorilor

1.8.1. Cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor

1.8.2. Cu citocromi ca acceptori;

1.8.3. Cu O_2 ca acceptor

1.8.4. Cu un compus disulfuric ca acceptor

1.8.5. Cu o chinonă sau compuși asemănători ca acceptor

1.8.6. Cu o grupare cu azot ca acceptor

1.8.99. Cu alți acceptori

1.9. Enzime care acționează asupra grupării *hem* ca donor

1.9.3. Cu oxigen ca acceptor

1.9.6. Cu o grupare cu azot ca acceptor

1.9.99. Cu alți acceptori

1.10. Enzime care acţionează asupra difenolilor sau substanţelor înrudite ca donori

1.10.2. Cu citocromi ca acceptori

1.10.3. Cu O_2 ca acceptor

2. Transferaze

2.1. Enzime care transferă grupări cu un carbon

2.1.1. Metilransferaze

2.1.2. Hidroximetiltransferaze, formiltransferaze şi transferaze similare

2.1.3. Carboxiltransferaze şi carbamoiltransferaze

2.1.4. Amidinotransferaze

2.2. Enzime care transferă grupări aldehidice sau cetonice

2.3. Acetiltransferaze

2.3.1. Acetiltransferaze

2.3.2. Aminoacetiltransferaze

2.4. Glicoziltransferaze

2.4.1. Hexoziltransferaze

2.4.2. Pentoziltransferaze

2.4.99. Transferă alte grupări glicozil

2.5. Enzime care transferă grupări alchil, aril, altele decât metil

2.6. Enzime care transferă grupări cu azot

2.6.1. Aminotransferaze

2.6.2. Amidintransferaze

2.6.3. Oxiimintransferaze

2.7. Enzime care transferă grupări cu fosfor

2.7.1. Fosfotransferaze cu o grupare alcool ca acceptor

2.7.2. Fosfotransferaze cu o grupare carboxil ca acceptor

2.7.3. Fosfotransferaze cu o grupare cu azot ca acceptor

2.7.4. Fosfotransferaze cu o grupare cu fosfor ca acceptor

2.8. Enzime care transferă grupări cu sulf

3. Hidrolaze

3.1. Enzime care acţionează asupra legăturilor esterice

3.1.1. Hidrolaze ale esterilor carboxilici

3.1.2. Hidrolaze ale esterilor tiolici

3.1.3. Hidrolaze ale esterilor monofosforici

3.1.4. Hidrolaze ale esterilor difosforici

3.1.5. Hidrolaze ale monoesterilor trifosforici

3.1.6. Hidrolaze ale esterilor acidului sulfuric

3.2. Enzime care acţionează asupra compuşilor glicozidici

3.3. Enzime care acţionează asupra legăturilor eterice

3.3.1. Hidrolaze ale tioeterilor

3.3.2. Hidrolaze ale eterilor

3.4. Enzime care acționează asupra legăturilor peptidice (peptidhidrolaze)

3.4.1. Aminoacidpeptid-hidrolaze

3.4.2. Carboxiaminoacilpeptid-hidrolaze

3.4.3. Dipeptidhidrolaze

3.4.99. Proteinaze necunsocute

3.5. Enzime care acționează asupra legăturilor C-N, altele decât legăturile peptidice

3.5.1. Asupra aminelor cu catenă liniară

3.5.2. Asupra aminelor ciclice

3.5.3. Asupra amidelor in catenă liniară

3.5.99. Asupra altor compuși

3.6. Enzime care acționează asupra anhidridelor acide

3.6.1. Asupra anhidridelor care conțin gruparea fosforil

3.6.2. Asupra anhidridelor care conțin gruparea sulfonil

3.7. Enzime care acționează asupra legăturilor carbon-carbon

3.8. Enzime care acționează asupra legăturilor cu halogeni

3.9. Enzime care acționează asupra legăturilor P-N

3.10. Enzime care acționează asupra legăturilor S-N

3.11. Enzime care acționează asupra legăturilor C-P

4. *Liaze*

4.1. Carbon-carbon liaze

4.1.1. Carboxi-liaze

4.1.2. Aldehid-liaze

4.1.3. Oxacid-liaze

4.1.99. Alte carbon-carbon liaze

4.2. Carbon-oxigen-liaze

4.3. Carbon-azot liaze

4.4. Carbon-sulf liaze

4.5. Carbon-halogen liaze

4.6. Fosfor-oxigen liaze

4.99. Alte liaze necunoscute

5. *Izomeraze*

5.1. Racemaze și epimeraze

5.1.1. Acționează asupra aminoacizilor și derivaților lor

5.1.2. Acționează asupra hidroxiacizilor și derivaților lor

5.1.3. Acționează asupra glucidelor și derivaților lor

5.1.99. Acționează asupra altor compuși

5.2. *Cis-trans* izomeraze

5.3. Oxidoreductaze intramoleculare

5.3.1. Transformă aldoze în cetoze

5.3.2. Transformă grupe cetonice în grupe enolice

5.3.3. Transpoziţii la nivelul legăturilor C-C

5.3.4. Transpoziţii la nivelul legăturilor S-S

5.3.99. Alte oxidoreductaze intramoleculare

5.4. Transferaze intramoleculare

5.4.1. Transferă grupări acil

5.4.2. Transferă grupări fosforil

5.4.3. Transferă grupări amino

5.4.99. Transferă alte grupări

5.5. Liaze intramoleculare

5.99. Alte izomeraze

6. *Ligaze sau sintetaze*

6.1. Enzime care formează legături C-O

6.2. Enzime care formează legături C-S

6.3. Enzime care formează legături C-N

6.3.1. Amoniac-acid ligaze (amino-sintetaze)

6.3.2. Aminoacid-acid ligaze (peptido-sintetaze)

6.3.3. Cicloligaze

6.3.4. Alte carbon-azot ligaze

6.4. Enzime care formează legături C-C

6.5. Enzime care formează legături esterice cu acid fosforic.

2.1.4. Proprietăţi generale ale enzimelor

Enzimele purificate se prezintă sub formă de pulbere albă sau gălbuie, putând fi obţinute şi sub formă cristalină. Cele mai multe enzime sunt solubile în apă şi în solvenţi organici polari (glicol, glicerină). Unele enzime sunt puţin solubile în etanol, acetonă, dioxan.

Masa moleculară a enzimelor variază în limite foarte largi; cea mai mică masă moleculară o are ribonucleaza: 13 700. În cazul asociaţiilor enzimatice, masa moleculară este foarte ridicată.

Fiind compuşi macromoleculari proteici, în soluţie enzimele au caracter de coloizi amfoteri, cu sarcina electrică variabilă funcţie de *p*H. Punctele izoelectrice ale enzimelor sunt diferite şi caracteristice pentru fiecare enzimă.

Fiind catalizatori, enzimele respectă legile catalizei:

influenţează viteza de reacţie, determinând scăderea energiei de activitate şi stabilirea mai rapidă a stării de echilibru. Astfel, s-a stabilit că în cazul hidrolizei zaharozei este necesară o concentraţie de protoni de zece milioane de ori mai mare decât cea de invertază, pentru a hidroliza aceeaşi cantitate de zaharoză, într-un timp dat şi la 37°C;

modifică viteză de reacție, accelerând-o, fără ca ele să se consume.

Eficiența catalitică a enzimelor este cu mult mai mare față de cea a catalizatorilor chimici obișnuiți, care acționează în lumea moartă. Această eficiență se exprimă prin numărul de turnover, care reprezintă numărul de moli de substrat transformat într-un minut de un mol de enzimă. Acest număr variază foarte mult: de la 100 la peste 3 milioane.

Cantități minime de enzime produc transformarea unor cantități deosebit de mari de substrat ca, de exemplu: o parte invertază scindează 200 000 părți de zaharoză.

Enzimele au o serie de proprietăți specifice, care le diferențiază de catalizatorii clasici.

Specificitatea enzimelor. Proprietatea enzimelor de „a alege" să acționeze numai asupra anumitor structuri chimice poartă numele de specificitate de substrat. O enzimă catalizează transformarea biochimică a unei singure substanțe sau, eventual, a mai multora, dacă au structură chimică apropiată și conțin același tip de legături chimice. Exemplul clasic îl constituie ureaza care catalizează exclusiv scindarea ureei în amoniac și dioxid de carbon și este inactivă față de derivații de uree; în acest caz ureaza prezintă o specificitate absolută de substrat. De asemenea, maltaza hidrolizează numai maltoza și nu are acțiune hidrolitică asupra altor dizaharide.

Un exemplu de înaltă specificitate de substrat manifestă aconitaza, enzimă ce intervine în ciclul Krebs. Astfel, acidul fluoracetic (FCH_2-COOH), asemănător mult cu acidul acetic (CH_3-COOH), este acceptat în combinația cu coenzima A și apoi condensat cu acidul oxalacetic formând acidul fluoracetic. Citrogenaza nu diferențiază acidul fluoracetic de acidul actic, dar aconitaza este inhibată de acidul fluorocitric, pe care nu-l transformă și ciclul Krebs este blocat.

În afară de specificitatea de substrat, enzimelor le este proprie și specificitatea de reacție sau de acțiune. Astfel, racțiile de hidroliză se petrec în prezența diferitelor enzime: sunt enzime specifice pentru hidroliza legăturii esterice, altele pentru hidroliza legăturii peptidice și altele pentru hidroliza legăturii glicozidice sau acetalice. Practic, esterazele hidrolizează legătura esterică, amidazele hidrolizează legătura amidică, proteazele pe cea peptidică.

Enzimele manifestă și specificitate sterică, care constă în aceea că o enzimă care catalizează reacția unui compus optic activ nu acționează asupra antipodului său optic. Această proprietate a enzimelor a fost folosită de Pasteur pentru separarea izomerilor optici. Un exemplu de specificitate sterică se găsește în cazul lactatdehidrogenazei din mușchi, enzimă care dehidrogenează acidul levo-lactic la acidul piruvic, dar nu are acțiune asupra acidului dextro-lactic. De asemenea, arginaza transformă prin hidroliză, în ornitină și uree, numai L-arginina și nu intervine asupra D-argininei.

Specificitatea sterică a enzimelor se manifestă atât în cazul izomerilor optici, cât și al izomerilor geometrici; astfel, succindehidrogenaza transformă acidul succinic numai în acid fumaric și nu îl transformă și în acid maleic.

De asemenea, fumaraza catalizează reacția de adiție a apei numai de către acidul fumaric (izomer *trans*), transformându-l în acid malic și este inactivă în cazul acidului maleic (izomer *cis*).

Unele enzime prezintă specificitatea de grup, înțelegând că acționează asupra unui grup de substanțe cu structuri chimice apropiate. Astfel, maltaza catalizează atât hidroliza dizaharidelor, cât și a glicozidelor; este deci indiferentă față de natura agliconului. De asemenea, fosfataza catalizează hidroliza esterilor acidului ortofosforic cu alcooli primari și secundari și esteri ai glucidelor sau alcoolilor ciclici. Specificitatea enzimelor prezintă importanță vitală.

Comportarea enzimelor față de căldură. Enzimele au o mare sensibilitate față de variațiile de temperatură. Încălzite peste o anumită temperatură își pierd activitatea lor catalitică. Toate enzimele sunt inactive la temperatura de peste 80°C, denaturându-se. Fac excepție enzimele diferitelor specii de bacterii termofile, care trăiesc în izvoare fierbinți; aceste enzime manifestă activitate catalitică și la temperaturi de peste 85°C.

Ribonucleaza își pierde activitatea prin încălzire, dar o redobândește prin răcire, având proprietatea de a-și relua conformația ei nativă. Temperaturile scăzute conservă activitatea enzimatică. Fiecare enzimă are o temperatură anumită pentru activitatea optimă. Până la această temperatură optimă, activitatea enzimei crește cu ridicarea temperaturii; peste această temperatură activitatea enzimei scade, deoarece ea se distruge. Cele mai multe enzime își desfășoară activitatea catalitică la temperatura de 37°C (temperatura corpului animal) sau la temperatura mediului ambiant.

Rolul *p*H-ului asupra activității enzimei. Acțiunea catalitică a enzimelor este în mare măsură influențată de *p*H. Pentru fiecare enzimă există o zonă de *p*H în interiorul căreia își poate exercita acțiunea catalitică, existând în această zonă și o valoare a *p*H-ului pentru care activitatea enzimei este maximă. Această valoare este denumită *p*H optim de activitate. Orice enzimă care acționează asupra unui substrat unic are un *p*H optim de acțiune în domeniul acid, bazic sau neutru. Enzimele care acționează asupra mai multor substraturi, ca pepsina sau tripsina, au un *p*H optim situat în limite mai largi. Astfel, pepsina este activă în mediul acid, având *p*H-ul optim cuprins între 2 și 5; este însă mai activă la *p*H 2-2,5; tripsina este activă în mediul bazic, având *p*H-ul optim între 8 și 11, iar lipaza pancreatică la 8.

Valoarea *p*H-ului la care enzima își poate manifesta activitatea catalitică variază în funcție de temperatură, de prezența diferiților ioni, de substrat și concentrația substratului, precum și de proveniența enzimei. De exemplu, maltaza la 47°C are *p*-H-ul optim la 4,3, iar la 35°C acest *p*H optim este de 7,2. De asemenea, amilaza din malț are *p*H-ul optim la 5,3, iar amilaza din pancreas la 7; în cazul lipazei extrase din boabele de fasole necoapte *p*H-ul optim este între 8,5 și 10,5, iar pentru cea din fasole coaptă este aproximativ 4,7.

Influența electroliților. Enzimele sunt deosebit de sensibile față de electroliți. Ionii metalelor grele (Ag; Hg; Pb) inhibă acțiunea catalitică a unor enzime. Proprietăți inhibitoare au și fluorurile, cianurile, sulfurile și alte săruri. Procesul de inhibiție a enzimelor se explică prin blocarea centrelor active de către inhibitori, prin denaturarea enzimelor, sau prin formarea unui complex dintre enzimă și substanțe inhibitoare. Uneori

acest complex se poate forma chiar între enzimă și produșii rezultați prin propria lor activitate; apare în acest caz un mijloc de autoreglare a reacției enzimatice.

Denaturarea și renaturarea enzimelor

Denaturarea constă în transformarea configurației native, cea mai stabilă din punct de vedere termodinamic, într-o structură dezordonată. Denaturarea se realizează ușor datorită faptului că structura terțiară e stabilită prin forțe destul de slabe. Pentru proteinele oligomere (reprezintă structura cuaternară), denaturarea presupune scindarea în subunități și apoi deplierea fiecărei catene în parte.

Factorii care contribuie la denaturarea enzimelor sunt: valorile extreme de *p*H, temperaturile crescute, prezența detergenților, agenți de tipul guanidinei hidroclorice sau ureei, diferite radiații etc., prin a căror acțiune activitatea catalitică se diminuează sau se pierde total.

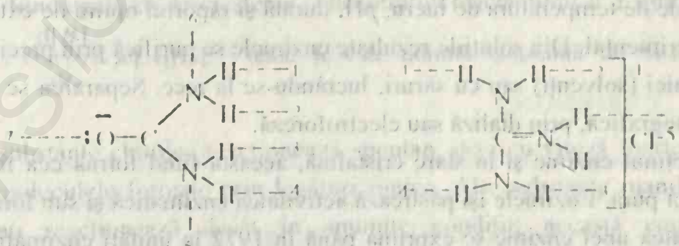
Denaturarea enzimelor implică scăderea activității lor catalitice, imposibilitatea de a cristaliza, apar modificări fizice (ale spectrelor caracteristice pentru vizibil sau UV, solubilității, viscozității); de asemenea, enzimele denaturate sunt mai susceptibile la atacul enzimelor proteolitice comparativ cu starea nativă.

Denaturarea se caracterizează prin reversibilitate sau ireversibilitate, denaturarea ireversibilă intervenind în cazul în care se acționează asupra enzimelor cu radiații și temperaturi mult crescute.

Mecanismele de denaturare sunt proprii pentru fiecare agent în parte. Astfel, ionii metalelor grele sunt agenți denaturați ai tioenzimelor, conform următoarei scheme:



Ureea și guanidina hidroclorică, datorită structurii lor, atunci când se află în concentrații mari (6-8 molar) scindează legăturile de hidrogen intracatenare din structura enzimelor, luând naștere un număr mare de alte legături de hidrogen:



Ureea (7 legături posibile) Guanidina hidroclorică (5 legături posibile)

Valorile extreme de *p*H produc și ele o modificare a stării de ionizare a resturilor de aminoacizi care pot fi implicați în menținerea structurii ordonate. Detergenții anionici și cationici acționează la concentrații mici, interacționează în miezul hidrofil al enzimei,

ceea ce conduce la o reorientare a radicalilor din structura aminoacizilor; analog acționează și solvenții organici, iar creșterea temperaturii determină apariția unor mișcări de rotație și vibrație a atomilor constituenți, dezorganizând molecula.

Renaturarea, procesul invers denaturării, este posibilă numai în cazul în care denaturarea suferită de enzime a fost reversibilă și constă în revenirea la structura ordonată cu încetarea acțiunii agentului denaturant.

Existența renaturării a condus la concluzia că structura primară a proteinelor este esențială pentru stabilirea conformației.

Studiindu-se ribonucleaza pancreatică, s-a constatat că ea conține în structură patru punți disulfurice care asigură structura ordonată (nativă). Prin denaturare cele patru punți disulfurice se desfac apărând opt grupări sulfidril (SH) care duc la pierderea activității catalitice a enzimei (apare și starea dezordonată).

Prin îndepărtarea agentului denaturant (ureea și 2 mercaptoetonol) are loc renaturarea și implicit redobândirea activității enzimatice.

2.1.5. Izolarea și purificarea enzimelor

În vederea studierii și folosirii lor, enzimele trebuie izolate și purificate. Enzimele pot fi izolate din celulele în care au fost elaborate sau din lichidele biologice în care se găsesc secretate și unde își exercită acțiunea lor (salivă, suc gastric, plasmă etc.).

În celule, enzimele se pot găsi în nuclee, mitocondrii, lizozomi, sau în citoplasmă. Extragerea enzimelor din celule este mai dificilă, deoarece la acest nivel între enzime și componentele celulei în care acestea se găsesc se stabilesc interacțiuni de natură fizico-chimică, formându-se agregate supramoleculare. Deoarece aceste agregate sunt în general insolubile în apă sau în soluții de electroliți, separarea unei enzime de un astfel de agregat reclamă desfacerea pe cale mecanică a acestuia și apoi solubilizarea enzimei. În acest caz, țesutul se mojarează în prezență de nisip sau alte substanțe (operația se poate face folosind țesut proaspăt sau mai bine congelat). Se cunosc multe alte posibilități de dezintegrare a țesuturilor organice (congelări, decongelări, ultrasunete etc.).

După sfărâmarea celulelor, materialul se usucă și se transformă în pulbere, de unde enzimele pot fi extrase cu solvenți, apă, soluții saline, soluții tampon etc. Extracția enzimei depinde de temperatura de lucru, *p*H, durată și raportul optim de extracție care se stabilește experimental. Din soluțiile rezultate enzimele se purifică prin precipitare cu unii compuși organici (solvenți) sau cu săruri, lucrându-se la rece. Separarea se poate face și pe cale cromatografică, prin dializă sau electroforeză.

S-au obținut enzime și în stare cristalină, aceasta fiind forma cea mai pură, fără însă a fi perfect pură. Enzimele își păstrează activitatea enzimatică și sub formă cristalină.

Activitatea unei enzime se exprima până în 1972 în unități enzimatice. O unitate enzimatică reprezintă cantitatea de enzimă care, în anumite condiții de *p*H, temperatură și concentrație a substratului, transformă un micromol de substrat, într-un minut. De exemplu, unitatea de urează se definea prin cantitatea de urează care eliberează din uree în 5 minute, la *p*H = 7 și la 20°C, 1mg azot amoniacal.

Comisia de Enzimologie a propus în 1972 renunțarea la unitatea enzimatică ca mod de exprimare a activității unei enzime și folosirea termenului katal (kat).

Un katal reprezintă cantitatea de enzimă capabilă de a transforma un mol de substrat într-o secundă. Katalul se poate folosi și pentru a defini alte noțiuni; astfel, activitatea specifică a unei enzime se exprimă în katal/kg proteină, sau activitatea molară a unei enzime se exprimă în katal/mol enzimă.

2.2. Cinetica reacțiilor enzimatice

2.2.1. Aspecte generale

Cinetica chimică se ocupă atât cu studiul și măsurarea vitezei de reacție sub influența diferiților factori, cât și cu studiul mecanismelor de reacție. Cunoscând viteza de reacție, se poate înțelege mai bine și reda mai corect desfășurarea reacției. Cinetica enzimatică studiază procesele biochimice care se petrec sub influența enzimelor, ținând seama de variația de substrat.

Prin viteză de reacție se înțelege cantitatea de substanță transformată în unitatea de timp. Cantitatea de substanță se exprimă prin număr de moli pe unitate de volum (V), ceea ce reprezintă concentrația (c).

Notând cu v viteza de reacție, se obține relația:

$$v = -\frac{dn}{V \cdot dt}; \quad \text{știind că} \quad \frac{n}{V} = c, \ \text{rezultă că} \ v = -\frac{dc}{dt}.$$

Viteza de reacție este redată prin descreșterea concentrației reactanților în unitate de timp, iar matematic se reprezintă prin derivata concentrației unuia dintre reactanți în raport cu timpul; se poate exprima și prin derivata concentrației crescânde a unuia dintre produșii de reacție (x), raportată la timp:

$$v = -\frac{dc}{dt} = \frac{dx}{dt}$$

Se știe că viteza de reacție este proporțională cu produsul concentrațiilor substanțelor reactante; astfel, considerând reacția $A + B \rightarrow C$, descreșterea concentrației reactantului A fiind egală cu descreșterea concentrației reactantului B, rezultă:

$$-\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = K[A][B];$$ unde K este numită constantă de viteză sau viteză specifică.

Unele substanțe chimice reacționează spontan, deci cu viteză foarte mare; aceste substanțe au moleculele formate prin legături ionice. Alte substanțe manifestă o inerție chimică și nu reacționează decât în anumite condiții; această comportare este caracteristică substanțelor organice, ale căror molecule conțin legături covalente. În această ultimă categorie se pot încadra și reacțiile biochimice, pentru a căror desfășurare este necesară prezența enzimelor, dar, din punct de vedere al vitezei de reacție, procesele chimice catalizate de enzime decurg de 10^8 până la 10^{11} ori mai repede decât cele necatalizate.

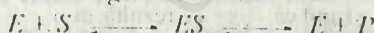
O reacție chimică se produce atunci când moleculele substanțelor reactante se ciocnesc între ele. Dar nu toate ciocnirile sunt eficace; după ciocnire unele molecule se îndepărtează reciproc, fără ca reacția să aibă loc.

Arrhenius a arătat că, pentru a reacționa, moleculele trebuie să posede o cantitate de energie superioară energiei medii a reactanților. Această energie suplimentară necesară moleculelor pentru a intra efectiv în reacție se numește energie de activare. Această energie ajută la scindarea moleculelor, determinând apariția reacției. Moleculele reactante primesc energie de activare din exterior sub formă de energie termică, luminoasă, radiantă etc.

Prin măsurarea vitezei de reacție în absența și în prezența catalizatorilor și prin calcularea energiei de activare, s-a tras concluzia că aceștia micșorează energia de activare. Același rol este îndeplinit și de către enzime în procesele biochimice.

Aspectele generale ce descriu reacțiile catalitice care se desfășoară în lumea moartă sunt aplicabile și reacțiilor enzimatice, exceptând faptul că în acest din urmă caz se aplică principiul saturării enzimei cu substratul. Practic, viteza unei reacții enzimatice crește proporțional cu creșterea concentrației substratului până la o anumită valoare, după care chiar dacă concentrația substratului continuă să crească, viteza de reacție rămâne nemodificată.

Ca și unele reacții obișnuite și reacțiile enzimatice pot fi reversibile; considerând enzima E, substratul S și produsul de reacție P, o reacție enzimatică reversibilă s-ar exprima prin următoarea schemă generală:



$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$$

Și în acest caz, viteza de reacție se definește prin cantitatea de substrat care se transformă în unitate de timp (t), reprezentată prin relația:

$$v = \frac{ds}{dt}$$

Considerând că după un timp s-a transformat o cantitate de substrat egală cu x, viteza de reacție este proporțională cu cantitatea de substrat netransformată deci:

$$v = \frac{d(S-x)}{dt} = K(S-x),$$

unde K reprezintă constanta de viteză a reacției enzimatice.

2.2.2. Factorii care influențează viteza reacțiilor enzimatice

Cinetica reacțiilor enzimatice, respectiv viteza lor, este influențată de mai mulți factori și anume: concentrația enzimei, concentrația substratului, mediul în care se desfășoară reacția enzimatică, respectiv pH-ul, temperatura mediului, prezența efectorilor (activatori sau inhibitori).

Influența concentrației enzimei. Cercetările au pus în evidență faptul că în condițiile concentrației constante a substratului, pentru majoritatea reacțiilor enzimatice, viteza de reacție este direct proporțională cu concentrația enzimei, între anumite limite. În

acest caz, viteza de reacție se exprimă: $v = K[E]$. Reprezentând grafic variația vitezei de reacție funcție de concentrația enzimei se obține o dreaptă (dreapta *A* din fig. 2.5).

Experimental s-a dovedit că nu în toate cazurile apare o dependență strict lineară. Prezența în sistem a altor factori (activatori sau inhibitori) determină devierea de la linearitate a curbelor care reprezintă dependența vitezei de reacție de concentrația enzimei (curbele *B* și *C* din fig. 2.5). Afară de prezența efectorilor, abaterile curbelor *B* și *C* se pot explica și prin erori tehnice sau experimentale.

Faptul că în majoritatea reacțiilor enzimatice apare o dependență lineară a vitezei de reacție funcție de concentrația enzimei, permite interpretarea că între enzimă și substrat se formează un intermediar enzimă-substrat, respectiv un complex activat (*ES*).

Fig. 2.5. Dependența vitezei de reacție de concentrația enzimei.

La concentrații ridicate în enzimă, efectul catalitic nu mai este proporțional cu concentrația enzimei și viteza de reacție crește foarte puțin, așa precum reflectă curba din fig. 2.6, unde din punctul *A* alura curbei se schimbă.

Prezența în mediul de reacție a unor inhibitori sau a unor impurități toxice este reflectată grafic prin apariția unor drepte care nu mai trec prin originea axelor de coordonate, ci intersectează abscisa la o anumită distanță de origine, ca în fig. 2.7. Astfel de cazuri apar dacă în mediul de reacție se găsesc urme de metale grele, față de care enzima este sensibilă.

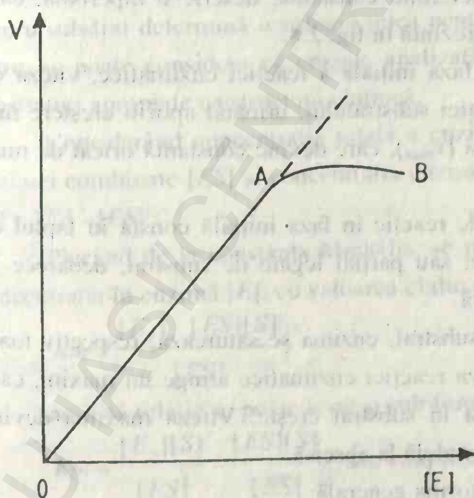


Fig. 2.6.

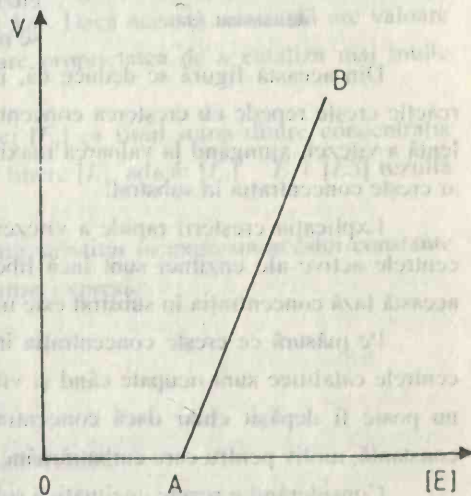


Fig. 2.7.

Curbe neliniare apar și în cazul unor proteinaze care acționează asupra unor substraturi naturale. După Schütz, viteza de reacție în aceste cazuri este proporțională cu rădăcina pătrată a concentrației în enzimă: $v = k[E]^{1/2}$.

Este de luat în considerare aspectul conform căruia enzimele proteolitice sunt elaborate sub forme inactive, de precursori enzimatici, care conțin în molecula lor și un inhibitor natural. Transformarea precursorului în enzimă activă presupune procesul prealabil al scindării precursorului și respectiv al scindării inhibitorului, ceea ce va influența viteza de reacție, diminuând-o la concentrații mai ridicate în enzimă.

Influența concentrației substratului. Concentrația substratului are o influență deosebită asupra vitezei reacțiilor enzimatice, indiferent dacă enzima se găsește în celulă sau este izolată. Cercetările au arătat că variația vitezei de reacție în funcție de concentrația substratului nu decurge linear, ci după o hiperbolă.

Aspectele cantitative ale variației vitezei de reacție raportată la concentrația substratului sunt cuprinse în teoria luin Michaelis-Menten. În conformitate cu această teorie, în desfășurarea reacțiilor enzimatice, între enzimă și substrat se formează un complex (*ES*), mai bogat în energie și în consecință mai nestabil, cunoscut și sub numele de complexul Michaelis. Formarea complexului *ES*, care este în fond o stare de tranziție, s-a pus în evidență pe cale experimentală mai greu, deoarece se formează și se consumă rapid. Totuși în cazul mai multor enzime el s-a evidențiat prin modificarea proprietăților spectrale, folosirea analogilor de substrat, micșorarea vitezei cu care decurg reacțiile enzimatice, pentru unele putând fi chiar izolat și obținut în stare cristalină.

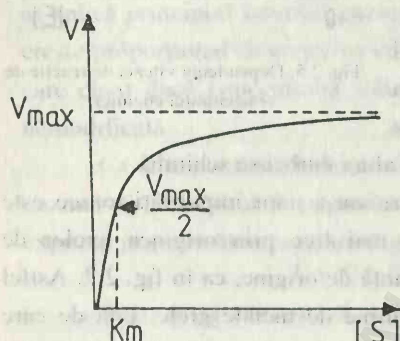


Fig. 2.8. Variația vitezei de reacție în funcție de substrat.

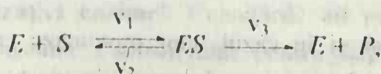
Datele experimentale obținute în cazul studierii variației vitezei de reacție funcție de concentrația crescândă a substratului, concentrația enzimei fiind constantă, descrie o hiperbolă, care se reprezintă în fig. 2.8.

Din această figură se deduce că, în faza inițială a reacției enzimatice, viteza de reacție crește repede cu creșterea concentrației substratului, urmând apoi o creștere mai lentă a vitezei, ajungând la valoarea maximă (v_{max}), care devine constantă oricât de mult ar crește concentrația în substrat.

Explicația creșterii rapide a vitezei de reacție în faza inițială constă în faptul că centrele active ale enzimei sunt încă libere, sau parțial legate de substrat, deoarece în această fază concentrația în substrat este mică.

Pe măsură ce crește concentrația în substrat, enzima se saturează, respectiv toate centrele catalitice sunt ocupate când și viteza reacției enzimatice atinge un maxim, care nu poate fi depășit chiar dacă concentrația în substrat crește. Viteza maximă devine constantă, motiv pentru care curba rămâne paralelă la abscisă.

Considerând o reacție enzimatică sub forma generală:



$$E + S \underset{v_2}{\overset{v_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{v_3} E + P,$$

în conformitate cu cinetica clasică, vitezele acestor reacții sunt:

$$v_1 = K_1[E][S];\ v_2 = K_2[ES];\ v_3 = K_3[ES],$$

unde K_1, K_2 și K_3 reprezintă constantele de viteză pentru fiecare din cele trei reacții. În momentul în care se instalează starea de echilibru, reacțiile fiind reversibile, v_1 devine egal cu v_2 și în acest caz pe măsură ce substratul S se transformă, în aceeași măsură apare și produsul final de reacție P, ceea ce reflectă și egalitatea:

$-\frac{dS}{dt} = +\frac{dP}{dt}$; deoarece $v_1 = v_2$, rezultă și egalitatea:

$K_1[E][S] = K_2[ES]$ sau $\frac{K_2}{K_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} = Km$, unde Km reprezintă constanta lui Michaelis, care apare și din raționamentul următor: dacă reacția decurge spre dreapta cu viteză mai mare ($v_1 > v_2$), atunci viteza de transformare a substratului este dată de diferența $v_1 - v_2$ și apare relația:

$$-\frac{dS}{dt} = v_1 - v_2 = K_1[E][S] - K_2[ES].$$

În același timp, viteza de formare a produsului este dată de relația:

$$v_3 = \frac{dP}{dt} = K_3[ES].$$

Deoarece $-\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}$, rezultă că $v_1 - v_2 = v_3$, ceea ce se poate reda și prin relația:

$K_1[E][S] - K_2[ES] = K_3[ES]$ sau $K_1[E][S] = K_2[ES] + K_3[ES] = ES(K_2 + K_3)$.

Expresia se poate scrie și sub forma:

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{K_2 + K_3}{K_1} = Km.$$

Constanta Michaelis Km, cunoscută și sub numele de constanta lui Michaelis-Menten, reflectă afinitatea enzimei față de substrat. Practic, o afinitate mare a enzimei pentru substrat determină o valoare mică pentru Km. Dacă această constantă are valoare mare, se poate considera că enzima analizată are proprietatea de a cataliza mai multe substraturi apropiate ca structură chimică.

Considerând concentrația totală a enzimei $[E_t]$ ca fiind suma dintre concentrația enzimei combinate $[ES]$ și concentrația enzimei libere $[E]$, adică: $[E_t] = E + [ES]$ rezultă $[E] = [E_t] - [ES]$.

Plecând de la constanta Michalis, se poate substitui în expresia acestei constante concentrația în enzimă $[E]$, cu valoarea ei din ultima expresie:

$$Km = \frac{[E_t] - [ES][S]}{[ES]};$$

această relație se poate scrie și sub forma:

$Km = \frac{[E_t][S]}{[ES]} - \frac{[ES][S]}{[ES]}$ sau simplificând rezultă:

$Km = \frac{[E_t][S]}{[ES]} - [S]$, deci $Km + [S] = \frac{[E_t][S]}{[ES]}$ și $[ES] = \frac{[E_t][S]}{[Km] + [S]}$.

Ținând seama de relația $v_3 = K_3[ES]$, care reprezintă o viteză de reacție v, se poate scrie $[ES] = v/K_3$; înlocuind în ultima relație pe $[ES]$ rezultă:

$$v = \frac{K_3[E_t][S]}{Km+[S]}$$

Viteza de formare a produsului final de reacţie este proporţională cu $[ES]$ şi când această concentraţie a complexului enzimă-substrat va fi maximă şi viteza reacţiei va fi maximă (v_{max}); Această situaţie apare când toată cantitatea de enzimă este legată de substrat, adică: $[ES] = [E_t]$. În acest stadiu viteza maximă a reacţiei este direct proporţională cu concentraţia enzimei totale $[E_t]$ şi dată de relaţia: $v_{max} = K_3 [E_t]$, care poate să fie introdusă în expresia vitezei v, de mai sus:

$$v = \frac{v_{max}[S]}{Km+[S]}$$

Relaţia obţinută reprezintă ecuaţia Michaelis-Menten, care redă viteza de reacţie funcţie de concentraţia substratului şi valoarea constantei lui Michaelis (Km) şi viteza maximă a reacţiei (v_{max}). Dacă se reprezintă grafic această ecuaţie, apare hiperbola din fig.2.8. Km corespunde teoretic punctului de la care hiperbola îşi schimbă panta, apărând practic o inflexiune. Viteza maximă depinde de natura enzimei şi a substratului, de pH, temperatura şi concentraţia enzimei; Km însă nu depinde de concentraţia enzimei.

Din ecuaţia lui Michaelis-Menten se observă că în cazul în care $Km = [S]$, viteza devine: $v = v_{max}/2$.

Prin urmare, constanta lui Michaelis Km este egală cu concentraţia substratului pentru care viteza de reacţie reprezintă 50% din viteza maximă. Valorile constantei Km variază în limite foarte largi; ele se pot determina experimental.

Dacă ecuaţia lui Michaelis-Menten se inversează, apare sub forma:

$$\frac{1}{v} = \frac{Km+[S]}{v_{max}[S]}$$; dezvoltând această relaţie rezultă:

$$\frac{1}{v} = \frac{Km}{v_{max}[S]} + \frac{[S]}{v_{max}[S]}$$ şi prin simplificare apare forma:

$$\frac{1}{v} = \frac{Km}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

Acestă expresie rezultată prin modificarea ecuaţiei clasice a lui Michaelis-Menten este cunoscută sub numele de ecuaţia Lineweaver-Burk care, reprezentată grafic, are forma unei drepte, a cărei expresie este de tipul: $y = ax + b$, unde a reprezintă panta dreptei, iar b valoarea punctului de intersecţie a dreptei cu ordonata.

Influenţa temperaturii. Având structură proteică, enzimele sunt foarte sensibile la modificarea temperaturii şi deci viteza reacţiilor enzimatice va fi puternic influenţată de temperatură. Funcţie de temperatură, enzima îşi modifică conformaţia, interacţiunea cu substratul, viteza de descompunere a complexului enzimă-substrat, interacţiunea enzimei cu activatori sau inhibitori.

Ca şi în cazul celor mai multe reacţii chimice şi în cel al reacţiilor enzimatice, viteza de reacţie creşte cu ridicarea temperaturii, dar până la o anumită limită a temperaturii, când viteza reacţiei enzimatice începe să scadă, datorită denaturării enzimei.

Prin scăderea temperaturii, viteza reacțiilor enzimatice se micșorează, dar temperaturile scăzute nu distrug proprietățile catalitice ale enzimelor, ci acestea se conservă; conservarea activității enzimelor se explică prin înghețarea apei protectoare din molecula enzimei, când aceasta nu mai suferă modificări structurale, deoarece apa înghețată nu mai interacționează cu enzima, care își poate păstra conformația intactă. Dacă temperatura începe să crească, reapare activitatea enzimatică. Temperaturile scăzute determină o inactivare reversibilă a enzimelor, spre deosebire de temperaturile ridicate, de peste 80 sau 100°C, care determină o inactivare ireversibilă. Între două temperaturi limită, deasupra și dedesubtul cărora enzimele își pierd activitatea, există un domeniu de temperatură la care enzimele sunt active, iar în acest domeniu apare o temperatură la care activitatea catalitică a enzimei este maximă; aceasta este numită temperatura optimă de acțiune a enzimei. Temperatura optimă pentru o enzimă este influențată de volumul și natura conținutului amestecului de reacție, ea depinzând și de metoda folosită pentru determinarea vitezei de reacție.

Pentru cele mai multe reacții enzimatice, în intervalul de temperatură cuprins între 0 și 60°C, ridicarea temperaturii cu 10°C determină dublarea vitezei de reacție. Mărimea care arată creșterea vitezei reacției enzimatice, pentru o creștere a temperaturii cu 10°C, poartă numele de coeficient de temperatură și se notează cu Q_{10}; în cele mai multe cazuri $Q_{10} \approx 2$, respectiv variază între 1,44 și 2,2. Acest coeficient de temperatură este dat de relația:

$$Q_{10} = \frac{v(T+10)}{v(T)}$$

Coeficientul de temperatură depinde de natura enzimei și între acesta și energia de activare a reacției catalizate există o anumită dependență. Practic, Q_{10} crește cu creșterea energiei de activare, deoarece prin ridicarea temperaturii are loc sporirea agitațiilor moleculare, ceea ce determină creșterea numărului de ciocniri eficace și în consecință crește viteza reacției.

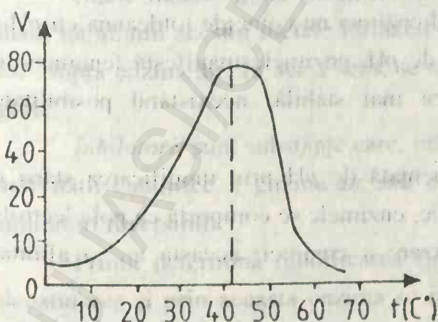


Fig. 2.9. Variația vitezei de reacție în funcție de temperatură

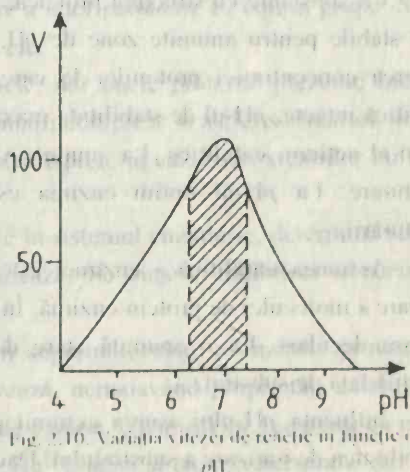


Fig. 2.10. Variația vitezei de reacție în funcție de pH

Curba din fig. 2.9. reflectă variația vitezei reacției enzimatice funcție de temperatură. Partea ascendentă a curbei arată creșterea continuă a vitezei de reacție până

la o valoare maximă care se găsește în jurul temperaturii de 40°C; viteza maximă corespunde temperaturii optime a enzimei. De la acest maxim apare o scădere a vitezei de reacție (partea a II-a curbei), explicată prin denaturarea termică progresivă a enzimei. Dacă temperatura nu este prea ridicată, inactivarea enzimei poate fi reversibilă.

Influența *p*H-ului. Mediul în care se desfășoară reacțiile enzimatice și în mod deosebit *p*H-ul influențează viteza de reacție. Fiecare enzimă se caracterizează printr-o anumită zonă de *p*H în interiorul căreia reacția catalizată de acea enzimă decurge cu viteză mai mare. Valoarea *p*H-ului din această zonă, la care viteza reacției enzimatice este maximă, constituie *p*H-ul optim. Valoarea acestui *p*H este influențată de mai mulți factori și anume: natura și concentrația substratului, natura și proveniența enzimei, durata de acțiune a enzimei asupra substratului, mediul de reacție și prezența în mediul de reacție a unor substanțe străine. Astfel, în cazul în care enzima își manifestă acțiunea catalitică asupra unui substrat care este ionizabil, în funcție de *p*H, variațiile de *p*H influențează ionizarea atât a substratului, cât și a enzimei, încât *p*H-ul optim depinde și de acești factori.

Variația vitezei de reacție enzimatică în funcție de valoarea *p*H-ului este reflectată de curba din fig.2.10. Maximul acestei curbe coincide cu valoarea *p*H-ului optim.

Pentru câteva enzime *p*H-ul optim are următoarele valori:

Denumirea enzimei	**Locul de acțiune**	***p*h-ul optim**
Pepsină	Suc gastric	1,8
Tripsină	Suc pancreatic	8,0
Chimotripsină	Suc pancreatic	8,1-8,6
Amilază	Suc pancreatic	7,0
Fosfatază alcalină	Os	8,6-9,1
Fosfatază acidă	Prostată	5,0-5,6

Ca substanțe cu structură proteică, enzimele sunt sensibile la variațiile de *p*H, ele fiind stabile pentru anumite zone de *p*H. Acest *p*H de stabilitate a enzimei reprezintă valoarea concentrației protonilor la care enzima își păstrează structura și activitatea catalitică intacte. *p*H-ul de stabilitate maximă al enzimei nu coincide totdeauna cu *p*H-ul optim al acțiunii catalitice. La anumite valori de *p*H, enzimele manifestă fenomene de denaturare. La *p*H-ul optim enzima este cea mai stabilă, neexistând posibilitatea denaturării.

Acțiunea catalitică a enzimei este influențată de *p*H prin modificarea stării de ionizare a moleculei de protein-enzimă. În soluție, enzimele se comportă ca polielectroliți macromoleculari. La o anumită stare de ionizare a enzimei, aceasta are o afinitate maximă față de substrat.

Influența *p*H-ului asupra acțiunii catalitice a enzimei este în dependență și cu posibilitatea de ionizare a substratului. Dacă forma ionică a substratului coincide cu *p*H-ul optim de activitate a enzimei, atunci acesta manifestă o acțiune catalitică maximă. Astfel, pepsina acționează hidrolitic asupra proteinelor, când acestea se găsesc la un *p*H acid, fiind sub formă de cationi; tripsina hidrolizează proteinele la un *p*H bazic, când ele se

găsesc sub formă de anioni, în timp ce papaina catalizează scindarea hidrolitică a proteinelor la *p*H-ul izoelectric.

Influența efectorilor. Efectorii sunt substanțe care pot mări sau diminua activitatea catalitică a unor enzime, deci pot accelera sau încetini viteza reacției enzimatice.

Substanțele care măresc viteza reacțiilor enzimatice se numesc, ca și în cazul catalizei clasice, activatori (se înțelege activatori enzimatici), iar substanțele care micșorează această viteză se numesc inhibitori enzimatici.

Activatorii sunt substanțe cu structuri chimice foarte variate, care măresc activitatea catalitică a enzimei prin diferite mecanisme.

Se disting activări directe, care sunt produse de substanțe și activări indirecte care se manifestă prin îndepărtarea unui inhibitor.

În prima categorie se întâlnesc ioni care pot transforma o proenzimă în enzimă activă; astfel, cationul Mg^{2+} activează fosforilazele. De asemenea, cationii Co^{2+}, Mn^{2+} activează arginaza, cationii Mg^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+} activează fosfoglucomutaza, iar anionii de clor activează amilaza.

Unii activatori își exercită acțiunea prin îndepărtarea unor fragmente din forma inactivă a unor enzime, transformându-le în formă activă. De exemplu, enterokinaza transformă tripsinognul în tripsină activă, acidul clorhidric transformă pepsinogenul în formă activă de pepsină, scindându-se un polipeptid cu un conținut ridicat în arginină. De asemenea, tripsina transformă chimotripsinogenul secretat de pancreas în chimotripsină activă.

În categoria activării indirecte se înscriu acțiunile de îndepărtare a inhibitorilor din sistem. Acțiunea inhibitoare a unor ioni este îndepărtată prin alți ioni; de exemplu, efectul inhibitor al cationilor Cu^{2+} asupra ureazei este îndepărtat de către anionii CN^-. De asemenea, prin acțiunea oxidantă a aerului unele enzime se inactivează; activitatea acestor enzime revine sub acțiunea reducătoare a unor substanțe ce conțin grupe -SH, ca: cisteina, glutationul redus, hidrogenul sulfurat etc.

Unele metale grele inactivează enzimele, dar unele proteine prezente includ în masa lor atomii acestor metale formând combinații complexe și astfel se înlătură acțiunea lor asupra enzimelor. În acest sens, se utilizează laptele în cazul intoxicațiilor cu metale grele.

Inhibitorii sunt substanțe care, introduse în sistemul enzimatic, determină scăderea activității catalitice a enzimelor sau o anihilează. Se cunosc inhibitori ireversibili și inhibitori reversibili.

Primii determină modificarea structurii supramoleculare a enzimei provocându-i denaturarea și prin aceasta enzima se inactivează, nemaiavând proprietăți catalitice. Ca exemple de inhibitori reversibili sunt: oxidul de carbon, compușii cu arsen sau cu mercur, anionii CN^-, cationi ai metalelor grele (Pb^{2+} ; Hg^{2+}), acizi și baze concentrate etc. Acești inhibitori formează cu enzima complecși ce nu pot fi disociați, legându-se covalent sau coordinativ cu aminoacizii din constituția enzimei. În acest caz, substanța inhibitoare nu se poate îndepărta prin dializă. În cazul inhibitorilor reversibili nu este afectată structura

supramoleculară a enzimei, între enzimă și inhibitor formându-se un complex labil, din care inhibitorul poate fi îndepărtat, iar enzima își recapătă proprietățile sale catalitice. Între enzimă și inhibitor se stabilește un echilibru caracterizat printr-o constantă de echilibru Ki, care reflectă afinitatea enzimei față de inhibitor. Inhibitorul reversibil determină inactivarea enzimei prin blocarea centrelor active enzimatice, fără afectarea structurii chimice a enzimei.

Inactivarea enzimelor se poate explica și prin legarea inhibitorului cu grupările coenzimei sau prin reacția dintre inhibitor și complexul enzimă-substrat, împiedicând desfășurarea reacției enzimatice în continuare.

Inactivarea enzimelor se mai poate produce de către analogii structurali ai coenzimelor, care le pot substitui în complexul holoenzimă, fără a manifesta proprietăți de coenzimă. Este cazul antivitaminelor care deplasează vitaminele ce joacă rol de coenzime, substituindu-le din holoenzime. De exemplu, acidul nicotinic, care are rol de coenzimă în lactatdehidrogenaze, este substituit de acidul piridin-3-sulfonic, formându-se enzime false, inactive. Acidul piridin-3-sulfonic poate substitui și nicotinamida din NAD^+ și $NADP^+$ (vezi vitamine hidrosolubile).

Inhibitorii care au structuri chimice asemănătoare substratului, îl pot substitui în reacția enzimatică (apare inhibiția competitivă), iar alți inhibitori pot bloca reacția, fără a substitui substratul (apare inhibiție necompetitivă).

Inhibiția competitivă este determinată de inhibitorii care prezintă analogie structurală cu substratul și au afinitate pentru centrul activ enzimatic; între inhibitor și substrat apare o competiție în formare de complex enzimă-substrat (*ES*) sau enzimă-inhibitor (*EI*) rezultat prin schema de reacție reversibilă:



$$E + I \overset{Ki}{\rightleftharpoons} EI$$

Datorită analogiei structurale cu substratul, legăturile dintre enzimă și inhibitori sunt de aceeași natură cu legăturile dintre enzimă și substrat. Complexul ES se poate transforma mai departe în P și E conform schemei: $E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P$, dar descompunerea complexului EI nu are loc decât într-un singur sens, inhibitorul neputându-se transforma în produs de reacție. Rezultă că enzima este solicitată de doi reactanți, ceea ce determină scăderea numărului de molecule de enzimă liberă, capabilă de a cataliza transformarea substratului. Deoarece reacția dintre enzimă și inhibitor este reversibilă, prin creșterea concentrației substratului se va produce înlocuirea inhibitorului, viteza reacției în prezența inhibitorului fiind dată de expresia:

$$v = \frac{v_{max}[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) \cdot Km + [S]}$$

Această ecuație se deosebește de ecuația Michaelis-Menten prin factorul $\left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right)$ numit coeficient de inhibiție.

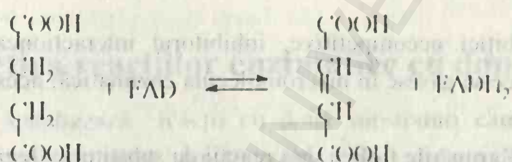
Se poate interpreta cu ajutorul acestei ecuații că prin creșterea concentrației inhibitorului, viteza de reacție v va scădea. Prin creșterea concentrației substratului, viteza

de reacție crește. Când concentrația substratului $[S]$ crește foarte mult, coeficientul de inhibiție devine neglijabil, iar viteza de reacție ajunge egală cu viteza maximă, ceea ce se verifică și experimental. În această situație, viteza de reacție este aceeași ca și în lipsa inhibitorului.

Se poate interpreta că în cazul inhibiției competitive viteza reacției enzimatice depinde atât de concentrațiile substratului și respectiv ale inhibitorului, cât și de interacțiunea enzimei cu substratul și respectiv cu inhibitorul.

De altfel, reacțiile fiind reversibile, echilibrul reacției este influențat de concentrația mai ridicată a substratului, sau a inhibitorului; crescând concentrația substratului, probabilitatea legării acestuia de centrul activ al enzimei va fi mai mare, în dauna inhibitorului.

Cazuri de inhibiție competitivă se găsesc în reacțiile metabolice ca, de exemplu, în reacția de transformare enzimatică a acidului succinic în acid fumaric, în prezența succinatdehidrogenazei (SDH), având drept coenzimă FAD. Reacția decurge după schema:



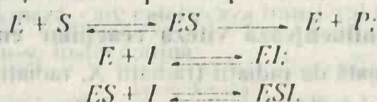
Acidul malonic, fiind un analog structural al acidului succinic, intră în competiție cu acesta și poate ocupa centrul activ al enzimei, încât substratul normal, acidul-succinic, nu este transformat în acid fumaric.

De asemenea, unii agenți terapeutici (medicamente) joacă în organism rol de inhibitori competitivi, ei având structuri chimice analoage cu ale substraturilor naturale, asupra cărora intervin catalitic enzimele. Sulfamidele, având structură chimică analoagă cu acidul *p*-aminobenzoic, devin inhibitori competitivi cu acesta, deoarece blochează centrul activ al enzimei care catalizează încorporarea acidului *p*-aminobenzoic în componența acidului folic (vezi subcap.1.3.10). În absența acidului folic, multiplicarea bacteriilor nu mai are loc și astfel se explică acțiunea bacteriostatică a sulfamidelor.

Inhibiția necompetitivă. În acest caz inhibitorul nu are analogie structurală cu substratul și el nu interacționează cu centrul activ al enzimei. Enzima este inactivată de inhibitor prin fixarea acestuia de unele grupări funcționale ale enzimei, grupări active, mai îndepărtate de centrul catalitic. Efectul inhibitor în acest caz nu poate fi împiedicat prin creșterea concentrației substratului.

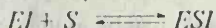
În inhibiția necompetitivă afinitatea enzimei pentru substrat nu este anihilată, ci scade numai viteza maximă a reacției.

Între enzimă, substrat și inhibitor pot să apară următoarele reacții de echilibru:



$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P;$$
$$E + I \rightleftharpoons EI;$$
$$ES + I \rightleftharpoons ESI.$$

Nu este exclusă şi posibilitatea reacţiei:



$$EI + S \rightleftharpoons ESI$$

Complexele rezultate prin participarea inhibitorului sunt formaţiuni inactive, ceea ce permite interpretarea că reacţia va decurge în prezenţa unei cantităţi mai mici de enzimă. Enzima complexată cu inhibitorul se consideră pierdută de către sistem.

Viteza reacţiei în inhibiţia necompetitivă este dată de următoarea expresie:

$$v = \frac{v_{max}[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) \cdot \left(Km + [S]\right)}$$

Această reacţie diferă de ecuaţia Michaelis-Menten prin apariţia coeficientului de inhibiţie $\left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right)$ la numitor, ceea ce duce la interpretarea că viteza reacţiei enzimatice în inhibiţia necompetitivă (în prezenţa unui inhibitor necompetitiv) scade. Se observă în mod lesne că această scădere va fi cu atât mai mică cu cât concentraţia în inhibitor I va fi mai mică. Într-adevăr, dacă $[I]$ 0, ecuaţia anterioară devine identică cu ecuaţia Michaelis-Menten.

În cazul inhibiţiei necompetitive, inhibitorul interacţionează mai frecvent cu grupările tiolice -SH ce se găsesc în macromolecula enzimatică; aceste grupări sunt active în procesele catalitice.

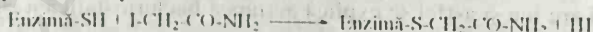
Se cunoaşte că grupările tiolice dau reacţii de substituţie, legând cationii metalelor grele (de argint şi mai ales mercur), formând mercaptide, conform schemei:



$$\text{Enzimă-SH} + Ag^+ \rightleftharpoons \text{Enzima-S-Ag} + H^+$$

Este posibil însă ca inhibitorul să acţioneze legând metalele necesare activităţii catalitice a enzimelor. De exemplu, acidul etilendiaminotetraacetic, cunoscut şi sub numele de complexon III, are proprietatea de a lega în mod complex cationii de Ca^{2+}, Mg^{2+} şi alţi cationi divalenţi, prin aceasta inhibând acţiunea catalitică a enzimelor la care sunt implicaţi şi astfel de cationi.

Unele molecule organice joacă rol de inhibitori necompetitivi prin formarea de legături covalente ca, de exemplu, iodacetamida care substituie hidrogenul mercaptanic, formându-se complecşi de tipul EI foarte stabili:



$$\text{Enzimă-SH} + I\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 \longrightarrow \text{Enzimă-S-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + HI$$

Se cunosc şi alte tipuri de inhibiţie a activităţii enzimelor:

inhibiţie prin produşi finali ai reacţiei enzimatice;

inhibiţie prin substrat, care apare numai la concentraţii ridicate de substrat, când se formează complecşi inactivi enzimă-substrat;

inhibiţie alosterică ce apare în cazul în care inhibitorul produce o modificare a conformaţiei centrului activ enzimatic, având ca rezultat inhibiţia enzimei respective sau diminuarea activităţii ei; enzima adoptă o conformaţie constrânsă, inactivă sau puţin activă.

Alţi factori care influenţează viteza reacţiilor enzimatice. Viteza reacţiilor enzimatice poate fi influenţată de radiaţii (radiaţii X, radiaţiile substanţelor radioactive) care, în doze mici, prin energia lor determină decompunerea apei; oxigenul rezultat este

foarte reactiv și determină inactivarea enzimelor, mai ales a acelora care conțin grupe mercaptanice (-SH) libere. Într-adevăr, enzimele tiolice sunt cele mai sensibile la agenții oxidanți. Pentru a le proteja, se pot folosi în mediul reacției enzimatice unele substanțe ușor oxidabile, care vor consuma oxigenul eliberat datorită radiațiilor, oxigen ce poate să apară și prin fotoliza apei. Dintre aceste substanțe fac parte: vitamina C, glutationul, cisteina și altele.

Enzimele sunt rezistente la acțiunea presiunii, încât activitatea lor catalitică nu este influențată de acest factor; presiunile mari însă, de peste 10 000 de atmosfere, determină inactivarea lor prin denaturare.

Moleculele enzimelor sunt sensibile la variații sonore și ultrasonore, care le pot provoca reacții de depolimerizare și de oxidare, încât le dispare activitatea enzimatică.

Activitatea enzimelor este împiedicată de prezența moleculelor de detergenți care, fiind compuși organici cu moleculele alcătuite din părți polare și nepolare, pot interacționa cu legăturile ionice, cu alte grupe polare sau nepolare din molecula enzimei și în consecință activitatea enzimei este diminuată, respectiv viteza reacției enzimatice scade.

2.2.3. Cinetica reacțiilor enzimatice cu două substraturi

Multe enzime catalizează reacții cu două substraturi care interacționează. În această categorie de enzime intră transferazele, care catalizează trecerea unui grup funcțional de la un substrat la altul.

Ecuația generală a unei reacții enzimatice cu două substraturi se poate reda prin schema:



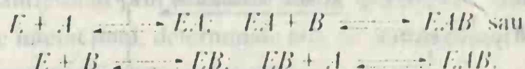
$$A + B \xrightarrow{\text{Enzima}} P + Q$$

Cinetica unei astfel de reacții este mai complexă, deoarece apar mai multe complexe binare (EA; EB; EP; EQ) și ternare (EAB; EPQ; EPB).

Reacțiile enzimatice cu două substraturi pot fi: reacții de simplă deplasare și reacții de dublă deplasare.

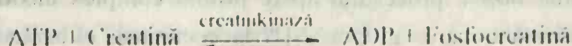
Reacții de simplă deplasare sau reacții secvențiale (Bi-Bi ordonat și Bi-Bi random). În cazul acestor reacții ambele substraturi A și B intervin în mod concertat asupra centrului catalitic al enzimei, rezultând complexul EAB care se poate forma într-o ordine întâmplătoare (random) sau într-o ordine determinată (ordonată).

La ordina întâmplătoare (reacții Bi-Birandom) fiecare dintre cele două substraturi se poate lega mai întâi de enzimă; formarea complexului ternar sau central EAB se poate forma după schemele:



$$E + A \rightleftharpoons EA; \quad EA + B \rightleftharpoons EAB \text{ sau}$$
$$E + B \rightleftharpoons EB; \quad EB + A \rightleftharpoons EAB.$$

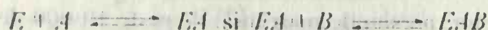
Un exemplu de reacție de simplă deplasare cu legare în ordine întâmplătoare este reacția catalizată de creatinkinază, care catalizează transferul unui rest de acid fosforic de la ATP la creatină, formându-se fosfocreatină:



$$\text{ATP} + \text{Creatină} \xrightleftharpoons{\text{creatinkinază}} \text{ADP} + \text{Fosfocreatină}$$

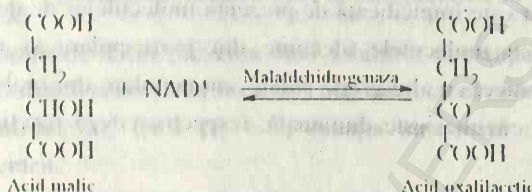
Cele două substraturi ATP și creatină se leagă arbitrar de centrul activ al enzimei formând complexul ternar, iar după transferul restului de acid fosforic, ordinea eliberării ADP-ului și fosfocreatinei este de asemenea arbitrară (aleatorie).

În reacțiile de simplă deplasare *ordonată* (reacții Bi-Bi ordonat) are loc o secvență obligatorie a reacțiilor, legându-se mai întâi un anumit substrat numit substrat principal (*A*) și apoi se leagă cel de al doilea substrat, care este secundar; formarea complexului ternar se poate reda prin schema:



$$E + A \rightleftharpoons EA \text{ și } EA + B \rightleftharpoons EAB.$$

Ca exemplu de reacție de simplă deplasare ordonată este reacția de dehidrogenare a acidului malic la acid oxalilacetic, care are loc în prezența unei dehidrogenaze (malatdehidrogenaza), având drept coenzimă NAD^+:



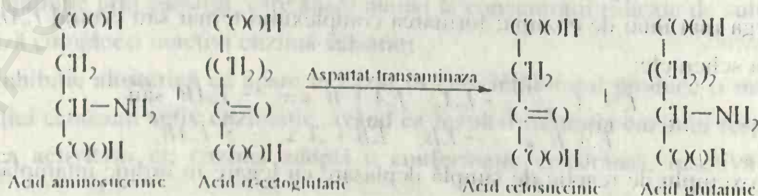
Acid malic — Acid oxalilacetic

În această reacție se leagă întâi NAD^+, ca substrat principal, care este obligatoriu să se lege primul de enzimă formând compelxul enzimă-NAD^+, și apoi se leagă acidul malic, ca substrat secundar, formându-se complexul ternar.

În general, enzimele din seria dehidrogenazelor care au nicotinamidadenin-dinucleotidul (NAD^+) drept coenzimă catalizează reacții de simplă deplasare ordonată.

Reacții de dublă deplasare. În cazul reacțiilor cu dublă deplasare, numite reacții cu mecanism ping-pong, are loc legarea unui substrat de enzimă și se eliberează un produs de racție, înainte de a participa la reacție cel de al doilea substrat. În această primă reacție substratul cedează enzimei o grupare funcțională, încât enzima rezultă puțin modificată. Enzima modificată se leagă de cel de al doilea substrat, căruia îi transferă grupara funcțională primită de la primul substrat, urmând apoi eliberarea celui de al doilea produs de reacție.

Un exemplu de reacție cu dubla deplasare îl constutuie reacția de transfer a grupării aminice de la acidul aminoaspartic la cidul α-cetoglutaric, formându-se ca produși de reacție acidul oxalic și acidul α-aminoglutaric. Această reacție este catalizată de enzima numită aspartat-transaminaza și decurge după schema:



Acid aminosuccinic — Acid α-cetoglutaric — Acid cetosuccinic — Acid glutamic

Această enzimă are drept coenzimă vitamina B_6 fosforilată, respectiv piridoxal-fosfatul. În primă fază a procesului apare primul complex enzimă-acid aminoaspartic, când este favorizată trecerea grupei $-NH_2$ la coenzimă, eliberându-se în continuare de

centrul activ acidul oxalacetic, ca fiind primul produs de reacție; la centrul activ eliberat se leagă cel de al doilea substrat, respectiv acidul α-cetoglutaric și urmează a II-a etapă a reacției de transfer a grupei $-NH_2$ de la enzimă la acest al doilea substrat, formându-se al doila produs de reacție, acidul α-aminoglutaric, enzima eliberându-se nemodificată și deci capabilă să continue procesul catalitic.

2.3. Mecanisme ale catalizei enzimatice

2.3.1. Aspecte generale

Deoarece fiecare enzimă are un mecanism chimic propriu de acțiune catalitică, rezultă că există o multitudine de interacțiuni biochimice enzimă-substrat și apare o mare dificultate de a găsi mecanisme enzimatice comune, cu caracter de generalizare. Această dificultate rezultă pe de o parte din structurile centrelor active enzimatice, din structurile chimice ale coenzimelor, iar pe de altă parte din structurile chimice diferite ale moleculelor de substrat care sunt într-un număr atât de mare.

Se poate aprecia că există unele asemănări între mecanismul catalizei enzimatice și cel al catalizei din lumea fără viață. O primă asemănare constă în proprietatea catalizatorilor și a biocatalizatorilor de a micșora energia de activare și în consecință de a spori viteza de reacție. În cazul reacțiilor biochimice, enzimele determină creșterea vitezei de reacție cu mult mai mult decât catalizatorii clasici.

Atât catalizatorii obișnuiți cât și enzimele, după terminarea procesului catalitic, rezultă neschimbați din punct de vedere cantitativ și calitativ, încât ei pot interveni imediat în procesul catalitic.

Creșterea vitezei de reacție, în ambele cazuri, se explică prin creșterea concentrației reactanților la suprafața catalizatorilor. Există mare diferență însă privind structura suprafeței unui catalizator clasic solid și structura suprafeței unui catalizator enzimatic, dar pentru ambele categorii de catalizatori există anumite regiuni mai active, pe suprafața cărora se petrec reacțiile chimice. În cazul enzimelor, această regiune activă este formată de un situs catalitic activ, în a cărui structură se găsesc anumiți aminoacizi iar pentru enzimele cu structură heteroproteidică la mecanismul procesului catalitic participă și coenzima.

Diferența mare între enzime și catalizatorii clasici constă nu numai în sporirea puternică a vitezei de reacție catalizată de enzime, ci și în proprietatea acestora de a-și selecta substratul, manifestând prin aceasta o înaltă specificitate. Între enzimă și substrat se pot stabili anumite interacțiuni, determinate atât de natura chimică a centrului activ și a coenzimei, cât și de natura chimică a substratului.

Pentru a elucida un mecanism de reacție enzimatică este necesară cunoașterea structurii chimice a substratului, a produșilor de reacție și a enzimei care intervine în acel proces biochimic. De asemenea, se cere cunoașterea grupărilor implicate în interacțiunea enzimă și substrat, care duc la formarea complexului *ES*, cât și a transformărilor chimice

care apar în structura substratului, datorită interacțiunii cu enzima, iar în ultimă fază se cere cunoașterea structurii produsului de reacție. În unele reacții este necesară cunoașterea stărilor de tranziție și structura intermediarilor care pot să se formeze în desfășurarea procesului biocatalitic.

2.3.2. Interacțiuni între enzimă și substrat

Cea mai veche părere privind interacțiunea dintre enzimă și substrat a fost emisă de Emil Fischer (1894), conform căreia pozițiile relative ale atomilor de enzimă nu se schimbă prin legarea acesteia cu substratul. Este așa-numita ipoteză a „lacătului și a cheii", care consideră că există o anumită configurație sterică rigidă a centrului catalitic ce se potrivește cu structura sterică a substratului. Datorită potrivirii moleculei de substrat cu centrul catalitic enzimatic apare o anumită compatibilitate care favorizează formarea complexului *ES*, molecula de substrat legându-se în spațiul centrului activ.

Această ipoteză nu s-a putut generaliza, neputându-se accepta conformația fixă, rigidă, a centrului catalitic, deoarece o singură enzimă poate cataliza transformarea unui număr mai mare de substraturi.

În anii 1958-1962, D. Koshland, Thoma și alții au elaborat teoria *adaptării induse*, care presupune că centrul activ enzimatic prezintă o anumită flexibilitate. Teoria acceptă că moleculele de substrat pot determina modificări în conformația centrului catalitic enzimatic, acesta orientându-și grupările active ale aminoacizilor, încât apare o adaptare a centrului activ pentru a lega eficient substratul. Deci substratul determină enzima să adopte o conformație capabilă de a forma complexul enzimă-substrat și în consecință nu poate fi vorba de o conformație rigidă.

Cercetări experimentale susțin teoria adaptării induse, descoperindu-se că pentru enzima creatinkinaza există cinci conformații diferite, iar un substrat este transformat cu o viteză cu atât mai mare cu cât modificarea conformației enzimei este mai mare. Modificarea mai mare sau mai mică a conformației enzimei nu depinde de mărimea moleculei de substrat.

Unii cercetători (Koshland și Neet) susțin că enzimele cu mase moleculare mari, cu punți cistinice intercatenare și cu structuri mai compacte, nu manifestă flexibilitate în procesul catalitic (ribonucleaza, chimotripsina, muramidaza). Acești cercetători consideră că modificarea conformației enzimei poate avea loc în trei stadii diferite, privind interacțiunea enzimă-substrat.

se leagă mai întâi substratul de enzimă și apoi are loc modificarea conformației;

se produce mai întâi modificarea conformației și apoi are loc legarea substratului la noua conformație;

legarea și modificarea conformației se produc inițial și apoi are loc formarea complexului *ES*.

Este mai rațional un proces concertat de legare a substratului concomitent cu modificarea conformației enzimei, care are drept rezultat formarea complexului activ *ES*, deoarece este de presupus că pe măsura apropierii substratului de enzimă se stabilesc interacțiunile dintre cele două molecule, având loc și modificarea de conformație.

În desfășurarea procesului catalitic, între enzimă și substrat se pot stabili interacțiuni prin punți de hidrogen, electrostatice, prin forțe Van der Waals, legături coordinative și legături covalente.

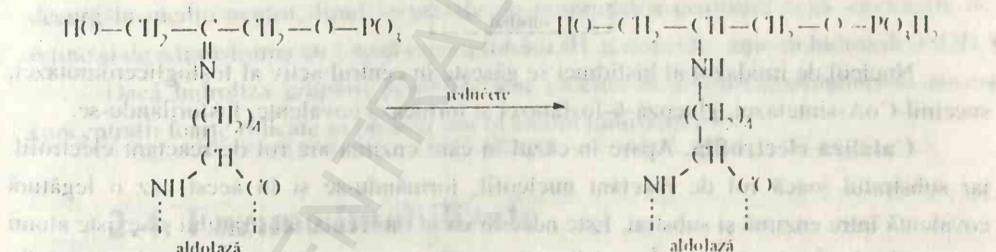
2.3.3. Cataliza covalentă

În desfășurarea proceselor catalizate de enzime, între substrat și enzimă, respectiv centrul ei activ, se stabilesc legături covalente deși reacția de formare a complexului *ES* este reversibilă, iar complexul *ES* are o energie ridicată încât reacția poate continua, formându-se produsul final de reacție, iar enzima se eliberează.

Deși compușii intermediari *ES* sunt nestabili, totuși în cazul câtorva enzime (tripsina, chimotripsina, fosfoglucomutaza și altele) aceștia au putut fi izolați. Astfel, enzima care catalizează transformarea esterului glucoză 1-monofosforic la ester glucoză 6-monofosforic în procesul glicolizei, fosfoglucomutaza, are în componența ei molecula de serină, care prin gruparea ei -OH se esterifică în procesul catalitic prezentat anterior. În acest caz, s-a izolat intermediarul și s-a reușit să se separe esterul fosforic al enzimei.

Unele enzime se leagă covalent de substrat, formând baze Schiff; așa este cazul aldolazei, care catalizează formarea esterului fructoză 1,6-difosforic din esterul dihidroxiaceton-1-fosforic și esterul glicerinaldehid-3 fosforic.

Complexul covalent intermediar, enzimă-ester dihidroxiaceton-1-fosforic, a putut fi stabilizat prin reducere, formându-se o amină secundară stabilă. În structura catalazei se găsește lizină cu gruparea aminică din poziția ε liberă, care se condensează cu gruparea cetonică a esterului dehidroxiaceton-1-fosforic:



Cataliza covalentă se desfășoară prin atac nucleofil sau electrofil al enzimei asupra substratului.

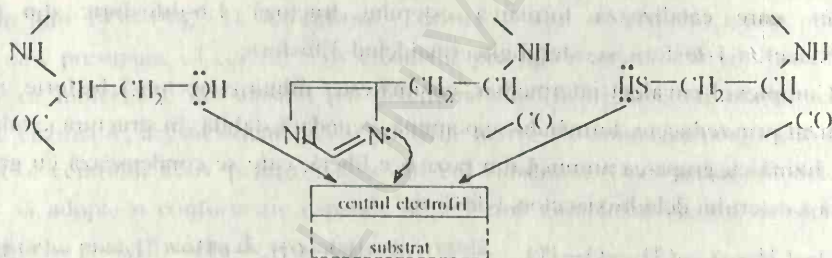
Cataliza nucleofilă. Acest proces presupune că în molecula catalizatorului există cel puțin un atom cu o pereche de electroni neparticipanți și în consecință capabili de a se lega de centre pozitive, respectiv de nuclee. Un astfel de catalizator este nucleofilic; în reacțiile catalitice el va ceda o pereche de electroni substratului, producându-se astfel un atac nucleofil.

Proprietățile nucleofile ale enzimelor rezidă în prezența unor atomi cu electroni neparticipanți, care se găsesc în componența unor aminoacizi. Dintre acești atomi fac parte cei de azot, oxigen și sulf, care se găsesc în componența histidinei, cisteinei, serinei, lizinei sau a altor aminoacizi. Viteza reacției enzimatice în acest caz este determinată de viteza de cedare a electronilor de către catalizator substratului. Prin această cedare de

electroni se formează între enzimă şi substrat legături covalente, mai ales atunci când grupele donatoare de electroni fac parte din centrele active. Astfel de grupe sunt: grupa -SH a cisteinei, grupa -OH a serinei, nucleul imidazolic al histidinei şi gruparea aminică liberă din molecula lizinei.

Se cunoaşte că cisteina din moleculele de papaină şi gliceridaldehid-3-fosfatdehidrogenază formează legături covalente cu substratul datorită proprietăţilor nucleofile ale grupei tiolice, care se acilează. În acest caz, grupa -SH se găseşte în centrul activ enzimatic. Astfel de legături covalente apar şi în cazul fosfatazei alcaline, fosfoglucomutazei, tripsinei etc., prin gruparea -OH a serinei, care se găseşte, de asemenea, în componenţa centrului activ şi care se leagă de substrat printr-un proces de esterificare. Alte enzime, ca: aldolaza, acetil-acetatdecarboxilaza, unele oxidaze au în componeţa centrului activ molecula de lizină care, prin gruparea $-NH_2$ liberă, formează legături covalente cu substratul prin apariţie de baze Schiff, aceasta presupunând ca substratul să participe la reacţie printr-o grupare carbonilică.

Se poate prezenta formarea legăturilor covalente între grupele nucleofile din centrele active ale enzimelor şi atomii electrofili ai substratului, prin următoarea schemă:



Nucleul de imidazol al histidinei se găseşte în centrul activ al fosfogliceromutazei, succinil-CoA-sintetazei, glucoză-6-fosfatazei şi formează covalenţe, fosforilându-se.

Cataliza electrofilă. Apare în cazul în care enzima are rol de reactant electrofil, iar substratul joacă rol de reactant nucleofil, formându-se şi în acest caz o legătură covalentă între enzimă şi substrat. Este necesar ca în molecula substratului să existe atomi cu perechi de electroni liberi. În cataliza electrofilă, procesul chimic este analog celui din cataliza nucleofilă, diferenţa constând doar în inversarea rolului enzimei şi al substratului. Enzimle care au în componenţa lor ioni metalici joacă rol de reactant electrofil, deoarece aceşti ioni metalici pot accepta uşor electroni de la un substrat. În acest caz, legăturile ce se formează între enzimă şi substrat sunt coordinative, acceptorul de electroni fiind metal-enzima. Este cazul carboxipeptidazei A, care are în centrul catalitic atomi de zinc, ce se pot lega coordinativ de grupe ale substratului cu electroni liberi, cum sunt grupele carbonilice C=O.

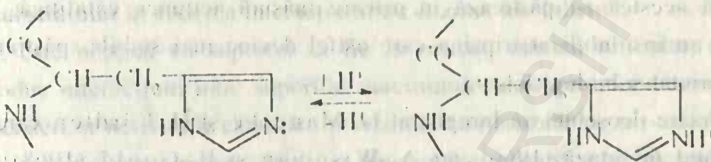
2.3.4. Cataliza prin acizi şi baze

Multe reacţii enzimatice care se petrec la nivelul celular, cum sunt adiţia apei la grupe carbonilice, reacţii de hidroliză a legăturilor esterice cu eliminarea de acizi carboxilici sau fosforic, reacţii de eliminare a apei cu formarea de duble legături, reacţii

de transpoziții și altele, decurg în prezența catalizatorilor cu caracter acid sau bazic. În acest tip de cataliză, viteza de reacție depinde de concentrația în protoni (H^+) sau în anioni (OH^-).

În componența multor enzime există grupări funcționale care au proprietatea de a se comporta în reacții ca acizii sau ca bazele, de exemplu grupările aminice, carboxilice, fenolice, tiolice, nucleul de imidazol.

Când reacțiile enzimatice se desfășoară în medii acide sau bazice, catalizatorul, propriu-zis enzima, îmbracă structuri determinate de acest mediu și acționează fie ca donor, fie ca acceptor de protoni. Nucleul imidazolic al histidinei are proprietatea de a accepta ușor sau de a ceda protoni, în condiții de *p*H apropiate celui din celulă.



În același sens al legării protonilor și al eliberării lor, deci a jucării rolului de bază și respectiv de acid, intervine și gruparea aminică liberă, respectiv forma sa ionică:



Se știe că nucleul de imidazol participă efectiv la multe reacții enzimatice.

Reacțiile de hidroliză la nivelul grupelor peptidice, catalizate de chimotripsină, decurg în mediu neutru, fiind favorizate de proprietatea centrului activ enzimatic de a reține și de a transforma cu viteză mare protonii (H^+), respectiv anionii hidroxilici (OH^-).

Dacă hidroliza grupării peptidice s-ar efectua în absența enzimelor, ar necesita concentrații foarte ridicate în protoni sau în anioni hidroxilici.

2.4. Enzime imobilizate

2.4.1. Aspecte generale

Enzimele au însușirea de a-și menține proprietățile catalitice și după ce au fost separate de celulele în care au fost biosintetizate. În scopul folosirii lor catalitice pentru transformări chimice ce au loc *in vitro*, devine necesară păstrarea lor pentru un timp mai îndelungat, fără ca activitatea catalitică să dispară. Acest deziderat se realizează prin „legarea" enzimelor de diferite substanțe organice sau anorganice, insolubilizându-le, proces cunoscut sub numele de *imobilizarea enzimelor*.

Noțiunea de imobilizare a enzimelor a fost dedusă din existența naturală a acestor compuși biologic-activi, care se găsesc practic legați sau fixați (imobilizați) pe membrane celulare sau sunt imobilizați în citoplasma celulară, stare în care își conservă în mod ideal conformația și deci și proprietățile catalitice.

Termenul de „imobilizare a enzimelor" a fost utilizat de O. R. Zaborsky (1973) pentru a defini posibilitatea reținerii și localizării enzimelor in scopul aplicării lor în procesele tehnologice continue, ce se caracterizează prin transformări chimice catalizate de enzime.

Acțiunea de imobilizare a enzimelor este cunoscută mai de multă vreme. Prima enzimă imobilizată a fost invertaza, realizare ce aparține lui J. M. Nelson și E. G. Griffin (1916). Ei au folosit ca adsorbant cărbunele de lemn și au observat că enzima își păstrează activitatea biologică pentru o perioadă mai lungă de timp. Această realizare a fost puțin luată în seamă și, aproape peste patru decenii, N. Grubhofer și L. Schleeth, folosind poliaminostiren ca suport, au imobilizat mai multe enzime (pepsina, amilaza), constatând că acestea își păstrează în oricare măsură acțiunea catalitică. Bor-Eli și Katchalski au insolubilizat tripsina care astfel devine mai stabilă, păstrându-și circa 20% din proprietatea biologică.

O realizare deosebită au inregistrat G. Manecke și H. Fördter, care au obținut rășini conținând invertază (1966), iar A. Wisoman și B. Gould (1968) au preparat polimeri care conțineau enzime (chimotripsină, tripsină, papaină).

Cercetările în această direcție au continuat, ajungându-se să se imobilizeze prin legături covalente pe derivați celulozici, mai multe enzime (tripsina, chimotripsina, ribonucleaza, oxidaze).

Lărgindu-se posibilitățile de imobilizare a enzimelor prin noi compuși organici ca suporturi, cercetările în acest domeniu s-au multiplicat, concretizându-se un domeniu deosebit al cercetării, incluzând atât aspecte chimice, cât și biochimice. Totodată, s-au găsit și domenii de aplicare a enzimelor imobilizate, care vizează aspecte ale cercetării de laborator și ale tehnicii productive, inclusiv realizara unor noi procese biotehnologice, cu aspecte conomice avantajoase.

2.4.2. Suporturi folosite pentru imobilizarea enzimelor

Se cunosc multe categorii de substanțe care pot fi folosite ca suporturi pentru imobilizarea enzimelor, de exemplu: lipide, geluri, schimbători de ioni, proteine, compuși macromoleculari naturali și sintetici, sticle poroase sau chiar metale.

Suporturile pentru imobilizarea enzimelor trebuie să aibă o reactivitate propice enzimelor, astfel încât conformația acestora să nu fie afectată, să prezinte stabilitate biochimică și rezistență la microorganisme, să prezinte o porozitate mare. Dintre substanțele care se bucură de utilizare mai largă în această direcție fac parte unele polizaharide, inclusiv polizaharide modificate chimic,polimeri sintetici ca polietilena și polimeri acrilici, compuși poliamidici, rășini fenolformaldehidice, alcool polivinilic, colagen și altele. Imobilizarea trebuie să păstreze la maximum posibil proprietățile caracteristice ale enzimelor. În acest sens, sunt mai potriviți compușii macromoleculari care au catene laterale mai lungi și posedă grupe funcționale reactive, accesibile enzimelor.

Suporturile enzimatice trebuie să se caracterizeze și printr-o suprafață specifică mare, respectiv compușii macromoleculari granulați trebuie să aibă granulele cu un

diametru cât mai mic, astfel ca prin umflare să apară o suprafață de contact cu enzimele cât mai mare.

Pentru o mai bună imobilizare și conservare a proprietăților biologice ale enzimelor, suportul macromolecular trebuie să aibă proprietăți hidrofile. Dacă suportul este bogat în grupe hidrofobe, activitatea enzimatică este diminuată (G. Manecke și colaboratorii, 1970).

Dacă enzima formează un număr mare de legături cu macromoleculele suportului, interacțiunea dintre enzimă și substratul ce va fi transformat catalitic de către acesta poate fi deranjată, și deci puterea catalitică scade.

Suporturile enzimatice macromoleculare cu grad înalt de reticulare nu favorizează pătrunderea substratului în vederea interacțiunii cu enzima imobilizată.

Totuși, este necesar ca suportul să fie în oricare măsură reticulat, căci în caz contrar se produc interacțiuni între suport și macromoleculele proteice enzimatice, ceea ce atrage o scădere a activității catalitice a enzimei imobilizate pe un astfel de suport. Dacă suportul conține grupe polare sau mai bine ionizate, acestea ar înlesni interacțiuni electrostatice cu substratul, cu condiția ca acesta să conțină grupe de densități electronice opuse. În aceste condiții, ar crește concentrația în substrat în interiorul și pe suprafața suportului, creându-se astfel condiții pentru creșterea vitezei de reacție enzimatică. În această direcție, cercetările efectuate de W. Brümmer și colaboratorii (1972) au arătat că pentru activizarea chimotripsinogenului B (încărcat negativ) este necesară o cantitate de tripsină imobilizată pe carboximetilceluloză (CMC), de șapte ori mai mare decât în cazul activizării chimotripsinogenului A (încărcat pozitiv). Înainte de efectuarea operației de imobilizare, cunoscându-se ce fel de enzimă va fi imobilizată și ce substrat va fi supus transformării catalitice, trebuie ales un astfel de suport, încât să fie cât mai compatibil cu substratul și care, prin legarea enzimei, să-i afecteze la minimum proprietățile catalitice.

2.4.3. Metode de imobilizare a enzimelor

Luând drept criteriu de clasificare a metodelor cunoscute pentru imobilizarea enzimelor interacțiunea lor cu suportul, se disting două categorii:

- metode ce se bazează pe interacțiuni fizice;
- metode ce se bazează pe interacțiuni chimice.

Metode fizice. Imobilizarea enzimelor prin procedee fizice nu reclamă formarea de legături covalente între enzimă și suport; enzima este reținută prin forțe electrostatice, prin includerea sau înglobarea (entrapare) în interiorul unor polimeri ce joacă rol de matrice, eventual includerea în interiorul unor microcapsule semipermeabile.

Reținerea enzimelor pe suporturi prin procedee fizice este un proces reversibil.

S-au reținut enzime prin adsorbție pe schimbători de ioni, constatându-se că acestea își mențin în mare măsură proprietățile catalitice. Pe această cale au fost imobilizate catalaza și ribonucleaza, aceasta din urmă după desorbție recăpătându-și practic integral activitatea.

În afară de schimbătorii de ioni, se mai folosesc drept suporturi colodiu, carbonatul de calciu, hidroxiapatita, derivații celulozei, lignină și alții.

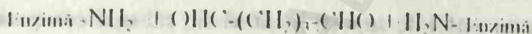
Natura suportului influențează în mod notabil activitatea enzimei. Astfel, s-a constatat că lignina, ca suport, are o influență negativă asupra activității enzimelor, în timp ce invertaza imobilizată pe dietilaminoetil-celuloză își păstrază intacte proprietățile catalitice. Prin adsorbție se imobilizează enzimele proteolitice, folosindu-se ca suporturi caolinul, parafina, derivații celulozici și alții.

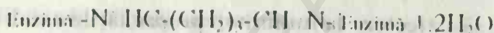
Unii compuși macromoleculari servesc ca suporturi enzimatice sub formă de geluri, de exemplu: compușii macromoleculari siliconici, poliacrilamida, amidonul etc. Enzimele sunt incluse în rețeaua acestor geluri când devin mai stabile față de căldură, iar activitatea enzimatică este în foarte mică măsură afectată. Enzimele imobilizate în geluri și-au găsit utilizări analitice: la formare de electrozi enzimatici, la prepararea unor membrane etc.

Prin imobilizarea enzimelor pe cale fizică, accesibilitatea substraturilor de dimensiuni mari este redusă, respectiv interacțiunea enzimă-substrat este împiedicată, aspect ce nu apare în cazul substraturilor alcătuite din molecule de dimensiuni mici.

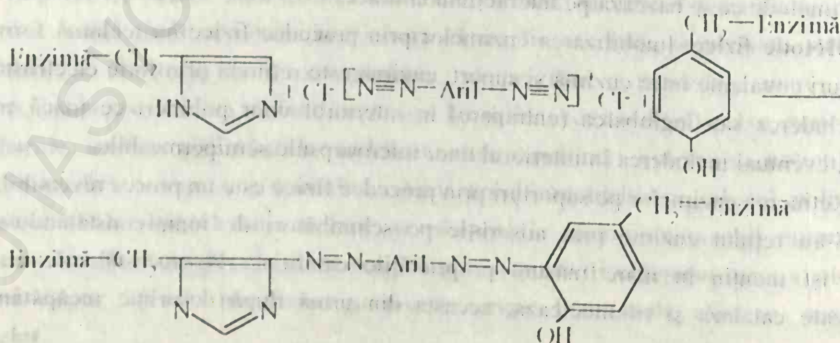
Metode chimice. Imobilizarea enzimelor prin metode chimice se explică prin formarea de legături covalente între enzimă și suport. În acest scop se folosesc un număr mare de suporturi de natură organică, unele cu structură macromoleculară, având în același timp și grupe funcționale reactive, care vor forma legături covalente cu molecula proteică a enzimei.

Unii reactivi difuncționali dau reacții de condensare, reacționând cu grupele aminice libere ale enzimei; pe această cale masa moleculară a produsului de reacție crește, ceea ce determină scăderea solubilității. Astfel reacționează aldehida glutarică, formând baze Schiff:


Enzimă-NH_2 + OHC-$(CH_2)_3$-CHO + H_2N-Enzimă →

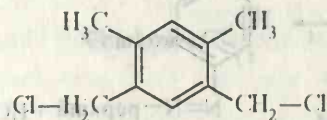

Enzimă-N=HC-$(CH_2)_3$-CH=N-Enzimă + $2H_2O$

Dacă la această condensare participă mai multe grupări aminice din catenele laterale, enzima se poate reticula. Reticulări se pot obține și prin tratare cu săruri de tetrazoniu (para-diamine tetraazotate), care se pot cupla cu nucleele fenolice ale tirozinei, cu nucleele de indol ale triptofanului, cu nucleele de imidazol ale histidinei sau chiar cu cele de pirol ale prolinei:

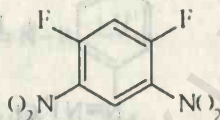


Gradul de reticulare, după această schemă, depinde de numărul nucleelor cu caracter aromatic care pot da reacţii de substituţie electrofilă.

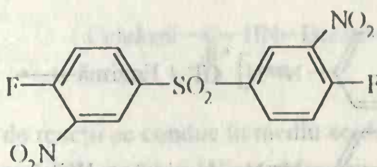
Unii reactivi difuncţionali halogenaţi aromatici, cu atomii de halogen în poziţie benzilică sau cu atomii de fluor activaţi de grupări nitrice, sunt eficienţi în producerea reticulării cheratinelor şi fibroinelor.



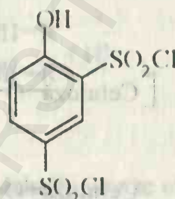
4,6-Bis-(clormetil)-metaxilen



m-Difluor-m-dinitrobenzen

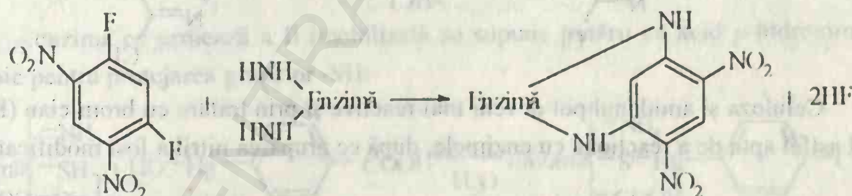


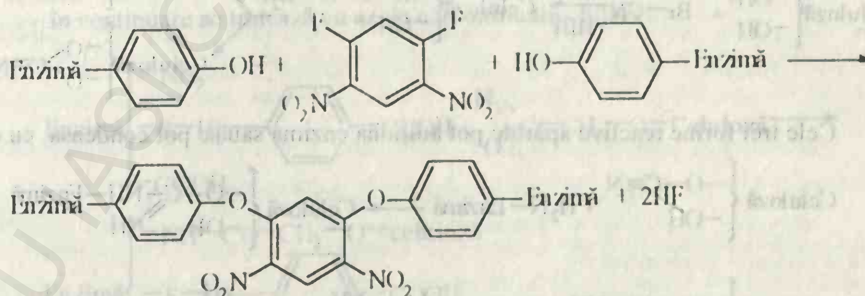
p,p'-Difluor-mm'-dinitrodifenilsulfona



2,4-Bis-(clorsulfo)-fenol

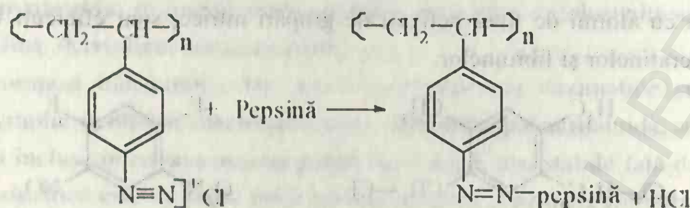
Folosind astfel de reactivi s-au insolubilizat tripsina, chimotripsina, ureaza, carboxipeptidaza, ribonucleaza etc. Posibilităţile de reacţie sunt multiple, deoarece la procesul de condensare pot participa nu numai grupa $-NH_2$, ci şi grupe -OH ale tirozinei, grupe -OH ale serinei, grupe carboxilice şi tiolice sau alte grupări libere din macromoleculele enzimei, iar moleculele difuncţionale pot reacţiona cu o singură catenă polipeptidică din structura enzimei, sau cu două, reticulându-le.



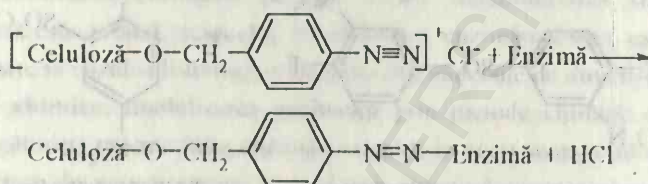


Dacă gradul de reticulare este mare, accesibilitatea substratului cu greutate moleculară ridicată este mai anevoioasă.

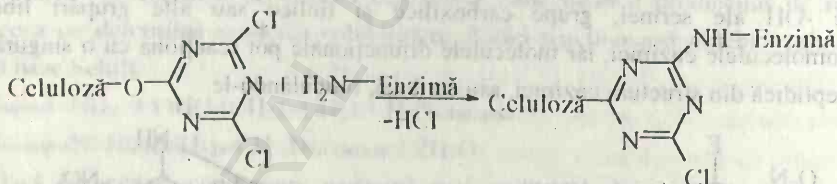
Se pot folosi ca suporturi și compuși macromoleculari, sub formă de săruri de diazoniu, care vor declașa reacții de substituție electrofilă; astfel poliaminostirenul diazotat (mai corect polidiazotat) poate imobiliza pepsina, după schema:



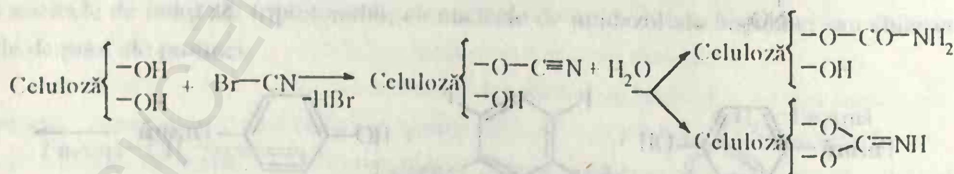
După aceeași schemă de reacție poate imobiliza enzimele *p*-aminobenzilceluloza diazotată:



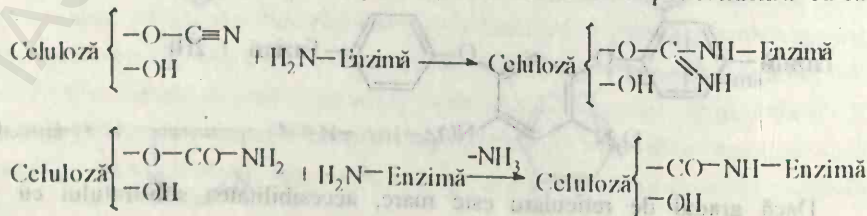
Celuloza poate deveni mai reactivă prin tratare cu clorură de cianuril (produs folosit la obținerea coloranților reactivi), putându-se apoi condensa cu enzimele conform schemei:

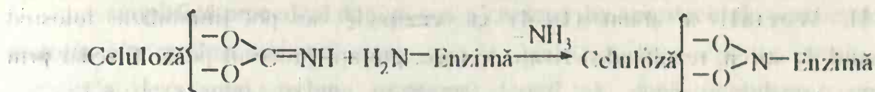


Celuloza și amidonul pot deveni mai reactive și prin tratare cu brom-cian (Br-CN), fiind astfel apte de a reacționa cu enzimele, după ce gruparea nitril a fost modificată:

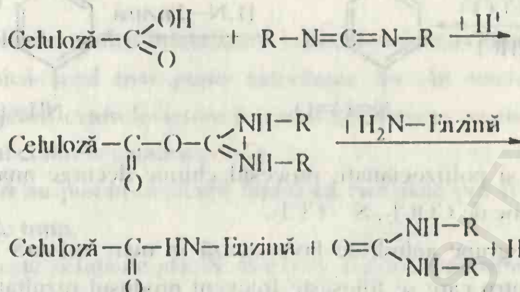


Cele trei forme reactive apărute pot adiționa enzima sau se pot condensa cu ea:





Carboximetilceluloza poate fi activată prin tratare cu carbodiimide distribuite la azot, apoi reacţionează cu enzime, care se leagă de asemenea covalent:

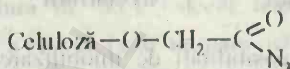


Astfel de reacţii se conduc în mediu acid.

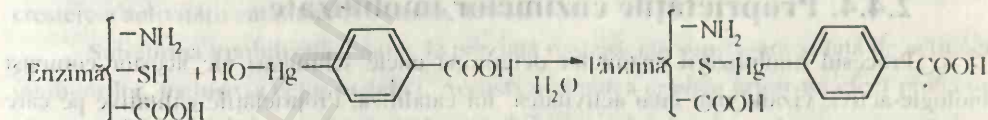
Pe această cale s-au imobilizat chimotripsina, unele dehidrogenaze etc.

În cazul imobilizării cu azide, intră în reacţie uşor grupele tiolice, care fac parte din centrele active, încât spre a nu scădea activitatea enzimelor, aceste grupări sunt protejate, în prealabil, prin tratare cu acid *p*-hidroximercur-benzoic; după tratare cu azide, gruparea -SH se eliberează:

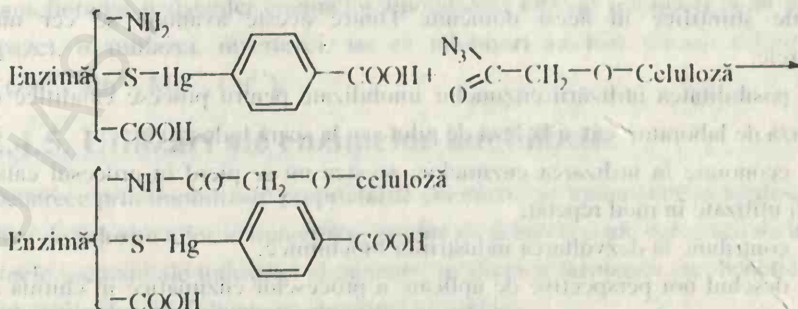
– mai întâi carboxil-celuloza este transformată în derivat de azidă:



– enzima ce urmează a fi imobilizată se supune tratării cu acid *p*-hidroximercur-benzoic pentru protejarea grupelor -SH:

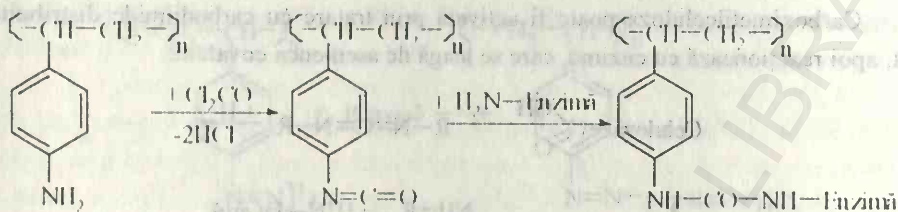


– în continuare se tratează cu azida carboximetilcelulozei:



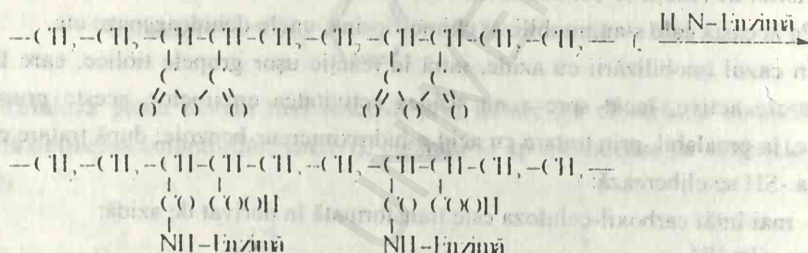
– urmează eliberarea grupei tiolice, protejate, prin tratare în mediu acid.

H. H. Weetall a arătat (1974) că enzimele se pot imobiliza folosind poliizocianatul de stiren, rezultând derivați de uree, grefați; procesul poate fi redat prin schema:



Se pot folosi și poliizocianați; procesul chimic decurge analog cu cel prezentat anterior, folosind în loc de $COCl_2$, S = CCl_2.

Prezența unei grupe anhidride favorizează în mare măsură legarea covalentă a enzimelor, motiv pentru care se folosește frecvent produsul rezultat din copolimerizarea etilenei cu anhidrida maleică:



Se cunosc încă multe posibilități de imobilizare a enzimelor pe cale chimică, folosind diferiți compuși, unii macromoleculari, de multe ori cu grupe ce au reacționabilitate mărită, care formează legături covalente cu macromolecula enzimatică.

2.4.4. Proprietățile enzimelor imobilizate

Procesul imobilizării enzimelor determină unele schimbări ale acestor compuși biologic-activi, vizând mai întâi activitatea lor catalitică. Proprietățile calitative pe care enzimele le pot avea după fixarea lor pe suporturi insolubile favorizează aplicarea lor în diferite direcții ale biotehnologiei, iar avantajele care apar justifică eforturile depuse prin cercetările științifice în acest domeniu. Dintre aceste avantaje se cer menționate următoarele:

posibilitatea utilizării enzimelor imobilizate pentru procese catalitice continue, atât la fază de laborator, cât și la fază de pilot sau la scară industrială;

economie în utilizarea enzimelor; acestea nu se pierd în procesul catalitic, ele putând fi utilizate în mod repetat;

contribuie la dezvoltarea industriilor biochimice;

deschid noi perspective de aplicare a proceselor enzimatice în chimia analitică, medicină, agricultură etc.;

simplifică procedeul de separare a enzimei din amestecul de reacţie, determinând apariţia unor produşi mai puri.

Ca dezavantaj, trebuie menţionat faptul că, după imobilizare, enzimele au activitate mai mică. Micşorarea activităţii enzimelor imobilizate se explică prin blocarea unor grupe reactive, care se găsesc în centrele active, sau chiar prin schimbarea conformaţiei enzimei.

Suporturile folosite pentru imobilizare influenţează activitatea enzimelor; cele cu masă moleculară mică scad mai puţin activitatea lor. În unele cazuri, înainte de imobilizare, se protejează centrele active folosind compuşi ce se îndepărtează uşor după imobilizare, eliberând centrele catalitice.

Unele cercetări au pus în evidenţă faptul că enzimele pot fi imobilizate pentru o perioadă mai lungă de timp.

Stabilitatea creşte şi faţă de *p*H. N. Weliky şi colaboratorii au constatat (1969) că în cazul peroxidazei fixată de carboximetilceluloză, supusă unui proces de îndepărtare la un *p*H cuprins între 4 şi 9, după o oră de agitare la diferite valori ale *p*H-ului, nu s-au decelat urme de enzimă în filtrate. După imobilizare, valoare *p*H-ului optim poate fi modificată spre valori mai mari sau mai mici. Aceste modificări se pot explica prin încărcarea electrică a suportului şi prin schimbările chimice suferite de enzimă, ca o consecinţă a reacţiilor ce au avut loc în procesul legării de suporturi.

Imobilizarea creşte rezistenţa enzimelor la variaţiile de temperatură. Experimental, s-a dovedit că tripsina legată de carboximetilceluloză sau de unii copolimeri sintetici este mult mai stabilă la temperatura de 55°C, decât tripsina liberă. Prin imobilizare, posibilitatea denaturării termice a enzimei este în mare măsură împiedicată.

Creşterea stabilităţii termice este pusă în evidenţă şi în cazul catalazei: în timp ce enzima liberă are temperatura optimă de activitate la 25°C, în cazul imobilizării ei pe o membrană de colagen, aceasta este cuprinsă între 35 şi 45°C; concomitent se observă şi o creştere a activităţii catalitice (O. Gozia, 1984).

Sub formă imobilizată, enzimele prezintă o rezistenţă superioară şi faţă de acţiunea inhibitorilor, inclusiv a celor metalici. Aceasta s-ar putea explica printr-un efect protector al suportului insolubil, care împiedică accesibilitatea inhibitorului spre enzimă, sau dacă structura chimică a suportului este potrivită, îl poate chiar lega. Astfel de rezultate, privind ameliorarea rezistenţei enzimelor imobilizate faţă de inhibitori, s-au obţinut în cazul lipazei, α-amilazei, invertazei, iar ca inhibitori au fost folosiţi diferiţi cationi metalici (Zn^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}).

2.4.5. Utilizări ale enzimelor imobilizate

Deoarece prin imobilizare proprietăţile enzimelor se îmbunătăţesc, se deschid largi perspective de folosire a lor în numeroase ramuri ale tehnicii şi ale cercetării de laborator.

Unele sectoare ale industriei alimentare, medicinei, farmaciei etc. beneficiază deja de aportul enzimelor imobilizate pe suporturi insolubile.

Industria alimentară este sectorul tehnic care foloseşte enzimele în calitate de catalizatori, de foarte multă vreme; în acest sector se folosesc deja enzimele imobilizate.

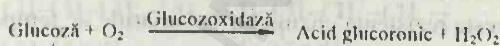
Astfel, în procesul de fabricare a brânzeturilor se folosește pepsină imobilizată, la conservarea laptelui se folosește tripsină imobilizată; papaină imobilizată pe metacrilat de etil determină obținerea unei beri mai clare, mai stabile și cu gust mai bun. Alte enzime imobilizate ajută la obținerea vinurilor mai limpezi. Amilazele insolubilizate pe diferite suporturi celulozice activate sunt folosite pentru hidroliza continuă a amidonului, în vederea obținerii glucozei.

În industria antibioticelor se obține acidul 6-aminopenicilanic prin hidroliza enzimatică a benzilpenicilinei. Acest proces hidrolitic se conduce în mod continuu în prezența penicilinamidazei imobilizată pe suporturi celulozice. Acidul 6-aminopenicilanic este un produs intermediar foarte important folosit la obținerea penicilinelor de semisinteză. De altfel, industria antibioticelor este de multă vreme beneficiara proprietăților catalitice ale enzimelor.

Sinteza fină a medicamentelor, a compușilor steroidici, face de asemenea apel la enzime imobilizate. Dedublarea amestecurilor racemice reușește foarte bine folosind enzimele corespunzătoare, imobilizate.

Se cunosc multe aplicații ale enzimelor imobilizate în chimia analitică. Se construiesc electrozi enzimatici, folosindu-se suporturi care insolubilizează enzimele.

Glucozoxidaza imobilizată în gel de poliacrilamidă se folosește pentru dozarea conținutului în glucoză a soluțiilor:



$$\text{Glucoză} + O_2 \xrightarrow{\text{Glucozoxidază}} \text{Acid glucoronic} + H_2O_2$$

Din consumul de oxigen se calculează concentrația în glucoză.

A. Guilbaut a confecționat un electrod din gel de poliacrilamidă conținând urează imobilizată, sensibil la cationii de amoniu; ureaza transformă ureea în cationi NH_4, aceasta constituind o cale de dozare a ureei.

Electroliza enzimatică poate fi folosită la dozarea acizilor aminici, dezaminați oxidativ sau pentru dozarea unor componente ale sângelui. Enzimele imobilizate își găsesc aplicații și în medicină, în scopuri terapeutice. În cazul imobilizării α-chimotripsinei pe membrană de colagen, se obțin preparate care au acțiune antiinflamatoare și de cicatrizare a rănilor.

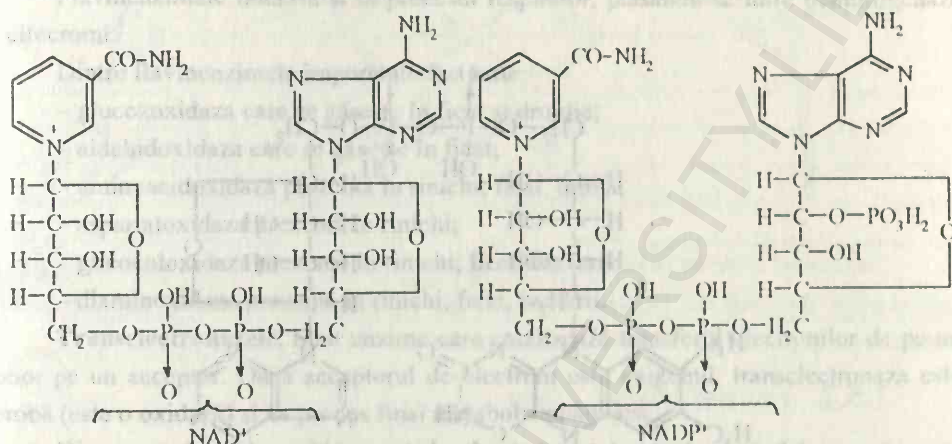
2.5. Descrierea unor enzime

2.5.1. Oxidoreductaze

Oxidoreductazele includ enzime care catalizează reacțiile de oxidare și reducere, respectiv reacții redox. Aceste reacții decurg prin transfer de electroni (enzimele fiind transelectronaze) sau prin transfer de hidrogen (decurg în prezența transhidrogenazelor numite și dehidrogenaze). Reacțiile de oxidoreducere sunt foarte numeroase și enzimele care le catalizează intervin în transferul de hidrogen sau de electroni prin coenzimele lor (NAD^+; $NADP^+$; FMN și FAD). Aceste coenzime iau ușor forme oxidate sau reduse.

Dehidrogenaze piridinnucleotidice. Aceste enzime sunt transhidrogenaze care transferă hidrogenul de la un substrat la altul, respectiv de la un donor la un acceptor, care nu este oxigenul.

Aceste dehidrogenaze au drept coenzime: nicotinamid-adenin-dinucleotidul oxidat NAD^+ sau redus NADH şi nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfat oxidat $NADP^+$ sau redus NADPH.



În reacţiile de transfer al hidrogenului intervine nucleul de piridină din molecula nicotinamidei (vezi subcap.1.3.4.), ceea ce se poate reda schematic astfel:

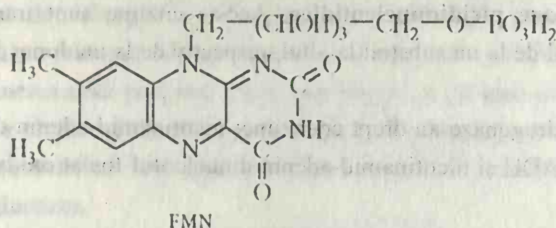


Natura apoenzimei influenţează activitatea coenzimei. Legătura dintre coenzima dehidrogenazelor şi apoenzimă se face printr-o electrovalenţă stabilă între nucleul de piridină şi protein-enzimă, o punte de hidrogen stabilită între atomul de azot al imidazolului şi grupa tiolică a proteinenzimei, cât şi prin interacţiuni stabilite între atomul de zinc al proteinenzimei şi coenzimă.

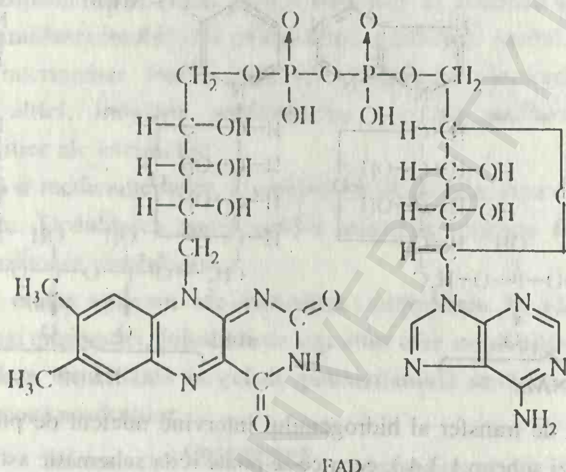
Oxidoreductazele manifestă acţiuni catalitice în ciclul Krebs, transformarea aerobă a glucozei, biosinteze de acizi graşi, de steroizi, oxidarea de alcooli, aldehide, aminoacizi. Ca exemple concrete se pot cita următoarele:

- alcooldehidrogenaza catalizează trecerea alcoolului la aldehidă;
- lactatdehidrogenaza catalizează trecerea acidului lactic în acid piruvic;
- maltatdehidrogenaza catalizează trecera acidului malic în acid oxalacetic;
- glutationreductaza catalizează trecerea glutationului oxidat în glutation redus;
- glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza catalizează trecerea esterului glucoză-6-monofosforic la eterul 6-monofosforic al acidului gluconic.

Enzimele flavinice. Sunt oxidoreductaze care îşi manifestă acţiunea catalitică prin intermediul flavin-adenin-dinucleotidului oxidat (FAD) sau redus $FADH_2$ şi flavin-mononucleotidului oxidat (FMN) sau redus ($FMNH_2$). Este evident că FAD şi FMN joacă rol de coenzime, având următoarele structuri chimice:



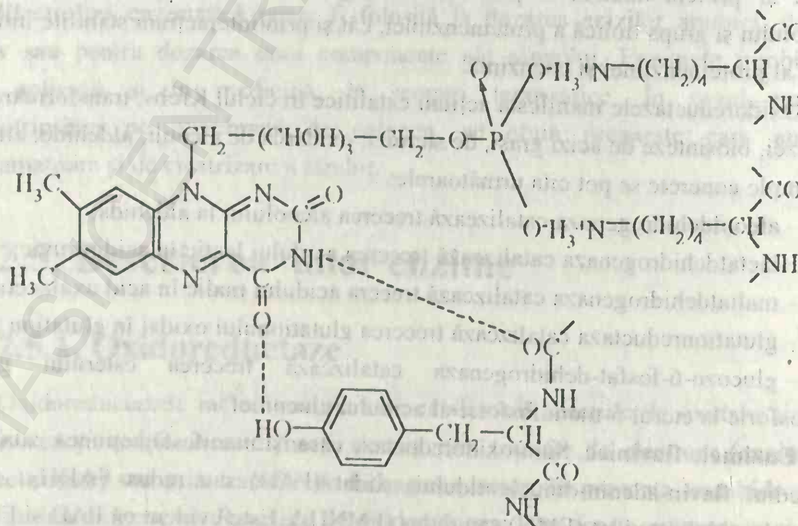
FMN



FAD

Structura acestor coenzime arată prezența vitaminei B_2 (riboflavina) în componența lor.

Între apoenzimă și coenzimă se stabilesc legături prin punți de hidrogen și electrovalente, așa precum se indică în schema următoare:



În mecanismele de oxidoreducere, flavinenzimele intervin prin nucleul izoaloxazinic din componeța coenzimei. Acest nucleu se poate reduce, acceptând hidrogen în pozițiile 1 și 10, care pleacă prin oxidare (vezi subcap.1.3.2.). Prezența unor metale (molibden, fier) în componența flavinenzimelor favorizează trasferul de electroni de la un substrat la altul.

Flavinenzimele intervin și în procesul respirator, plasându-se între dehidrogenaze și citocromi.

Dintre flavinenzimele importante fac parte:
- glucozoxidaza care se găsește în ficat și drojdie;
- aldehidoxidaza care se găsește în ficat;
- aminoacidoxidaza prezentă în rinichi, ficat, inimă;
- aspartatoxidaza prezentă în rinichi;
- glicocoloxidaza prezentă în rinichi, ficat, bacterii;
- diaminoxidaza prezentă în rinichi, ficat, bacterii.

Transelectronazele. Sunt enzime care catalizează transferul electronilor de pe un donor pe un acceptor. Dacă acceptorul de electroni este oxigenul, transelectronaza este aerobă (este o oxidază) și ca produs final metabolic apare apă.

Din punct de vedere chimic, oxidazele sunt metalproteide, având în componența lor fier sau cupru. Metalul participă la mecanismul de transfer de electroni:

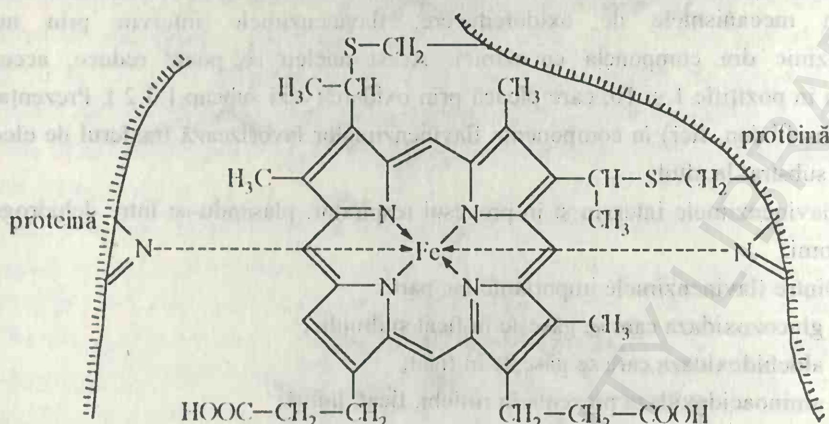


$$Fe^{3+} \underset{-e}{\overset{+e}{\rightleftharpoons}} Fe^{2+}$$

Din categoria oxidazelor fac parte: oxigenazele, dioxigenazele, hidroxilaze, citocromoxidaza, peroxidazele și altele.

Dacă acceptorul de electroni nu este oxigenul, transelectronazele sunt anaerobe și poartă numele de citocromi; participă la procese de oxidare celulară. Din punct de vedere chimic, citocromii sunt proteide, având ca grupare prostetică un complex de fier numit fier-porfirină. În funcție de catena laterală grefată pe nucleele pirolice și structura apoenzimei, rezultă mai mulți citocromi, notați prin litere: *a*; a_3; *b*; *c*; c_1 etc. S-au izolat citocromi și din regnul vegetal.

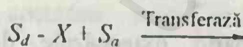
Mai cunoscut este citocromul *c*, care are drept grupare prostetică molecula de *hem*, de care se leagă partea proteică prin două legături tioeterice rezultate prin adiția grupărilor tiolice ale cisteinei la grupările vinilice pe nucleele pirolice, iar atomul de fier al hemului este legat coordinativ de două nuclee de imidazol din componența histidinei. O astfel de structură determină stabilitate ridicată acestui citocrom:



Citocromii intervin în procesele de oxidare la nivelul celulelor, catalizând legarea hidrogenului provenit de la diferite substraturi cu oxigenul, rezultând apă. În aceste procese se degajă energie, care este stocată în moleculele de ATP.

2.5.2. Transferaze

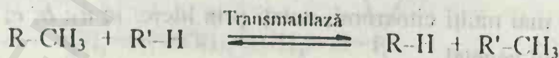
Transferazele alcătuiesc o clasă de enzime care catalizează reacții de transfer a unor grupări (ce nu sunt atomi de hidrogen) de la un substrat donor (S_d) la un alt acceptor (S_a):



$$S_d - X + S_a \xrightarrow{\text{Transferază}} S_a - X + S_d$$

Pot fi transferate grupări metil, carboxil, aldehidice, cetonice, acilice, aminice, amidice etc.. În funcție de gruparea transferată apar și denumirile de transmetilaze, transfosfataze, transaminaze, transamidaze etc.

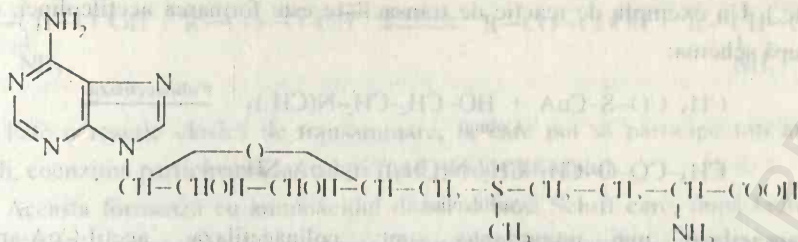
Transmetilazele. Catalizează reacția de transfer a grupării metil de la un donor la un acceptor, după schema:



$$R-CH_3 + R'-H \underset{}{\overset{\text{Transmatilază}}{\rightleftharpoons}} R-H + R'-CH_3$$

Ca donori de grupări metilice funcționează colina, metionina, betaina, esterul metilfosforic etc. Acceptori de grupări $-CH_3$ sunt colamina, noradrenalina, glicocolul etc.

Transferul grupării $-CH_3$ al colinei sau metioninei necesită o activare în prezența unui compus bogat în energie, cum este ATP, când metilul devine „activat". Astfel, metionina devine activată prin transformarea ei în S-adenozilmetionină, cu următoarea structură chimică:



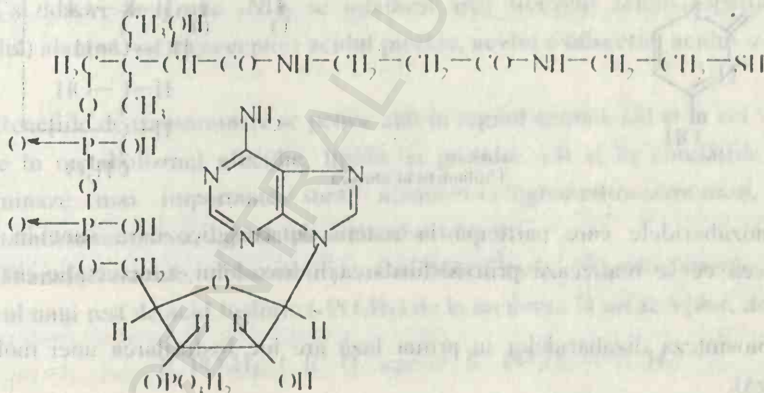
Sub această formă metilul este deosebit de reactiv, deoarece se găsește legat de un atom de sulf cationic, care atrage electronii covalenței metil-sulf, ceea ce favorizează transferul grupării metilice pe un acceptor ce are un atom cu electroni nepartieipanți, cum este atomul de azot legat prin trei covalențe, ca azotul din colamină, glicocol etc. Reacții catalizate de metiltransferaze au loc în ficat, creier, rinichi, mușchi, când metionina ca donor de CH_3- este sub formă activă de S-adenozilmetionină.

Transacilazele. Catalizează transferul grupărilor acil(R-CO-) de la un donor la un acceptor, conform schemei:



$$R\text{-}CO\text{-}R' + R''\text{-}H \rightleftharpoons R\text{-}H + R''\text{-}CO\text{-}R'$$

Coenzima transacilazelor este coenzima A(CoA-SH), care are următoarea structură:



Ca donori de resturi acide sunt acizii organici activați, ai căror radicali sunt legați de coenzima A la gruparea tiolică; apare o legătură mercaptoacil (legătură tioesterică) bogată în energie. Transformarea acizlor organici în acil derivați ai CoA se face prin furnizare de energie de către ATP:

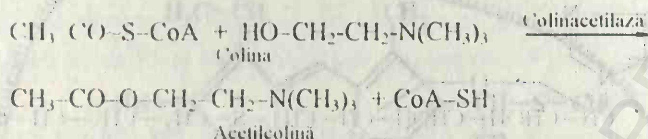


$$R\text{-}COOH + CoA\text{-}SH + ATP \longrightarrow R\text{-}CO\text{-}S\text{-}CoA + AMP + PP_i$$

Ca receptori ai radicalilor acizii pot fi următoarele substanțe: monozaharide, aminoacizi, amine, colina etc.

În procesele metabolice joacă rol important acetil-CoA, respectiv acetatul activat, care poate să apară în catabolismul glucidic, protidic sau lipidic și poate constitui un precursor pentru procese anabolice (formare de acizi grași, steroli, hormoni corticoizi și

sexuali etc.). Un exemplu de reacție de transacilare este formarea acetilcolinei, care se petrece după schema:



$$CH_3\text{-}CO\text{-}S\text{-}CoA + HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_3 \xrightarrow{\text{Colinacetilază}}$$
Colina

$$CH_3\text{-}CO\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_3 + CoA\text{-}SH$$
Acetilcolină

Transacilaze mai importante sunt: colinacetilaza, acetil-CoA-arilamin-transacetilaze, bnzoil-CoA-glicocoltransacetilaze și altele.

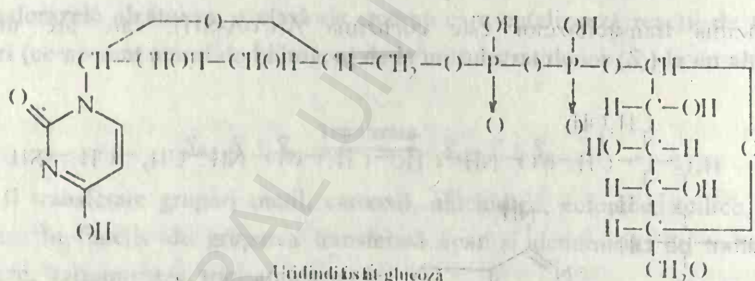
Transglicozilazele. Catalizează transferul unui rest glucidic de la un donor la un acceptor, după schema:



$$R\text{-glucozil} + R'\text{-}H \longrightarrow R'\text{-glicozil} + R\text{-}H$$

Ca donori de resturi glucidice sunt oligoglucidele, poliglucidele, glicozizii etc., iar ca acceptori apar mai frecvent unele mono- sau oligozaharide ce participă la formare de dizaharide sau polizaharide, acidul fosforic, diferiți aglíconi etc.

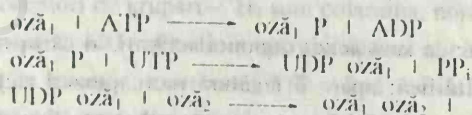
Rolul de transportor al resturilor glicozil este îndeplinit de uridindifosfatul (UDP), de care se leagă un rest monozaharidic formând UDP-glicozil:



Uridindifosfat-glucoză

Monozaharidele care participă la reacții de tansglicozilare sunt în prealabil activate, ceea ce se realizează prin fosforilarea hidroxidului semiacetalic, în prezența ATP-ului.

În biosinteza dizaharidelor în prima fază are loc fosforilarea unei molecule de manoză (oză):



$$oză_1 + ATP \longrightarrow oză_1\text{-}P + ADP$$
$$oză_1\text{-}P + UTP \longrightarrow UDP\text{-}oză_1 + PP_i$$
$$UDP\text{-}oză_1 + oză_2 \longrightarrow oză_1\text{-}oză_2 + UDP$$

Reacțiile catalizate de transglicozilaze conduc la formarea de polizaharide, glicozizi etc.

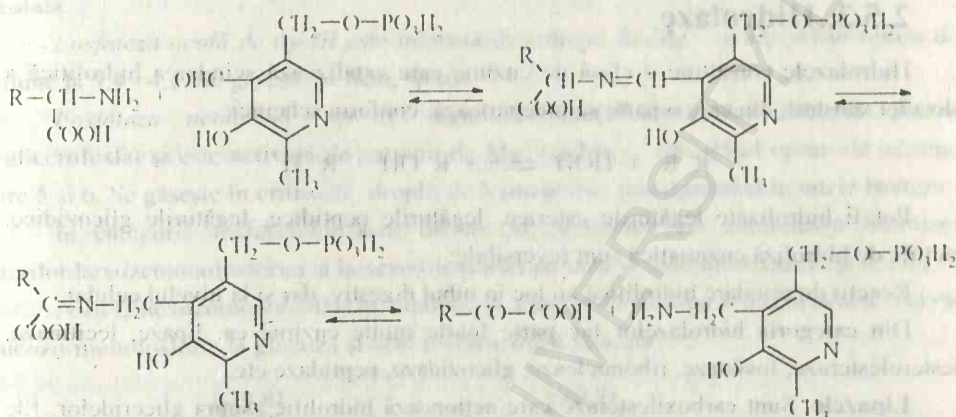
Cele mai importante transglicozidaze sunt: polizaharid-fosforilazele, dizaharidfosforilazele, nucleotidfosforilazele etc.

Transaminazele. Numite și aminotransferaze, transaminazele catalizează transferul grupei aminice de pe un aminoacid pe un cetoacid, conform schemei:



Este o reacție clasică de transaminare, la care pot să participe toți aminoacizii naturali, coenzima participantă la reacții fiind piridoxalfosfatul.

Aceasta formează cu aminoacidul donor o bază Schiff care, după tautomerizare, prin hidroliză eliberează acidul α-cetonic și piridoxaminfosfatul; reacția este reversibilă:



Ca donori de grupe $-NH_2$ se întâlnesc mai frecvent acidul aspartic, glutamic, glicocolul, alanina, iar ca acceptori acidul piruvic, acidul oxalacetic, acidul α-cetoglutaric etc.

Reacțiile de transaminare se petrec atât în regnul animal, cât și în cel vegetal, fiind întâlnite în metabolismul glucidic, lipidic și protidic, cât și în corelațiile metabolice. Transaminaze mai importante sunt: alanin-α-cetoglutarattransaminaza, aspartat-α-cetoglutarattransaminaza, aspartatpiruvattransaminaza.

Transfosfatazele. Numite și fosfotransferaze, transfosfatazele catalizează transferul unui rest de acid fosforic ($-PO_3H_2$) de la un donor la un acceptor, după schema:



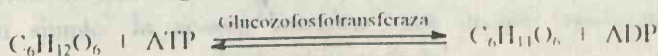
$$R\ PO_3H_2 + R'\ H \rightleftharpoons R'\ PO_3H_2 + R\ H$$

Fosfotransferazele sunt cunoscute și sub numele de kinaze.

Ca donori de grupe „fosfat" funcționează nucleozidele trifosfatice și mai ales ATP, iar ca acceptori pot fi monozaharidele, aminoacizii, acizii grași, unele vitamine etc. Procesele biochimice de fosforilare sunt însoțite de schimburi de energie ridicată, deoarece ATP-ul înglobează legături macroergice.

Cele mai importante fosfotransferaze sunt: hexokinazele, fosfofructokinaza, fosfoglicerokinaza, creatinkinaza, nucleoziddifosfokinaza, fosfomutazele etc.

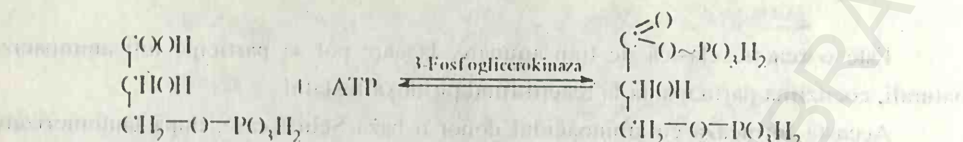
Reacția de fosforilare a glucozei se poate reda prin schema :



$$C_6H_{12}O_6 + ATP \xrightleftharpoons{\text{Glucozofosfotransferaza}} C_6H_{11}O_6 + ADP$$

Are loc esterificarea funcției alcoolice de la carbonul 6.

Fosforilarea acidului 3-fosfogliceric la acid 1,3-difosfogliceric se petrece după schema:



2.5.3. Hidrolaze

Hidrolazele constituie o clasă de enzime care catalizează scindarea hidrolitică a moleculei substrat, din care o parte se îndepărtează, conform schemei:



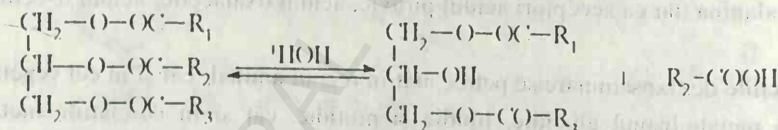
Pot fi hidrolizate legăturile esterice, legăturile peptidice, legăturile glicozidice. Reacțiile de hidroliză enzimatică sunt reversibile:

Reacții de scindare hidrolitică au loc în tubul digestiv, dar și la nivelul celular.

Din categoria hidrolazelor fac parte foarte multe enzime ca: lipaze, lecitinaze, colesterolesteraze, fosfataze, ribonucleaze, glicozidaze, peptidaze etc.

Lipazele. Sunt carboxilesteraze care acționează hidrolitic asupra gliceridelor. Ele se găsesc în sânge, suc pancreatic, stomac, rinichi, dar și în vegetale.

Procesul hidrolitic catalizat de lipaze se poate schematiza prin reacțiile clasice:

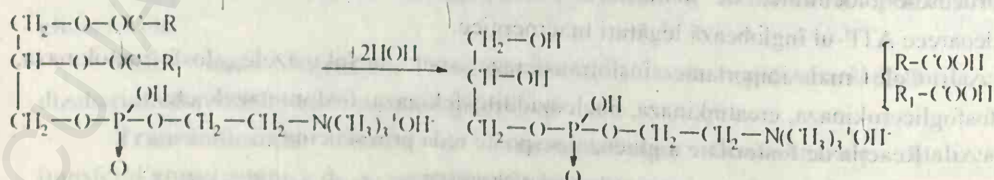


Procesul continuă până la eliberarea glicerinei și a acizilor grași. Un astfel de proces are loc în intestin, fiind catalizat de lipaza pancreatică; aceasta este activată de cationii de calciu și de acizii biliari.

Fosfolipazele catalizează hidroliza glicerofosfatidelor cu eliberare de acizi grași.

Lecitinazele. Sunt carboxilesteraze care au ca substrat molecule de lecitine și cefaline, hidrolizându-le în acizi grași și glicerofosfat de colină sau colamină. Se cunosc două lecitinaze: lecitinaza A, care eliberează moleculele de acizii grași nesaturați din lecitine sau cefaline, și lecitinaza B, care eliberează moleculele de acizi grași.

Reacția de hidroliză se poate schematiza în felul următor:



Se cunoșc mai multe lecitinaze.

Fosfatazele. Catalizează reacțiile de hidroliză a esterilor fosforici. Ele sunt de mai multe tipuri.

Fosfatazele alcaline de tip I hidrolizează α-glicerofosfatul la un *p*H = 8,6 - 9,4 și sunt activate de unii cationii (Mg^{2+}; Co^{2+}; Zn^{2+}). Ele intervin în procesul de înmuiere a oaselor.

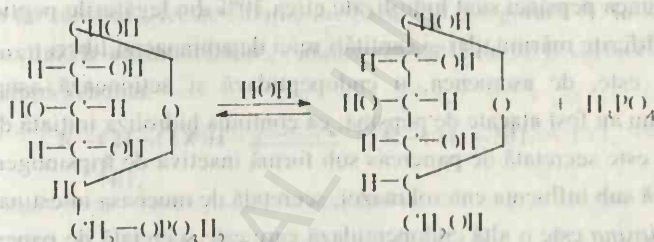
Fosfotaza acidă de tip II nu este activată de cationii de Mg^{2+} și are *p*H-ul optim de acțiune în mediu acid (5,0 - 5,5). Se găsește în ficat, splină, rinichi și în carcinomul de prostată.

Fosfataza acidă de tip III este inhibată de cationii de Mg^{2+} și are *p*H-ul optim de acțiune la 3,4 - 4,2. Se găsește în ficat, splină.

Fosfataza acidă de tip IV manifestă specificitate mai ridicată pentru α-glicerofosfat și este activată de cationii de Mg^{2+} și Mn^{2+}. Are *p*H-ul optim de acțiune între 5 și 6. Se găsește în eritrocite, drojdii de fermentație, mucegaiuri și în unele bacterii.

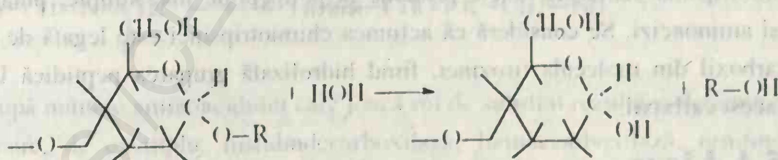
În categoria fosfatazelor sunt incluse și enzimele care catalizează hidroliza esterilor hexozemonofosforici și hexezodifosforici precum și fosfodiesterazele și altele.

Astfel, hexozomonofosfataza, numită și glucozo-6-fosfatază hidrolizează esterul glucozo-monofosforic la glucoză și acid fosforic după schema:



Hexozodifosfatazele elimină un rest de acid fosforic din esterul fructozo-1,6-difosforic, cunoscut sub numele de esterul lui Harden și Young.

Glucozidazele. Catalizează reacția de hidroliză a legăturilor glicozidice din oligozaharide și polizaharide, conform schemei:



În categoria glicozidazelor se includ un număr mai mare de enzime a căror denumire reflectă de cele mai multe ori molecula de substrat asupra cărora acționează:

α-Glucozidazele catalizează scindarea hidrolitică a dizaharidelor, de exemplu: maltaza și zaharaza, sau celobiaza și lactaza.

Polizaharidazele acționează asupra polizaharidelor, pe care le scindează hidrolitic la glucide mai simple. În această categorie sunt incluse: amilazele, celulazele, heteropolizaharidazele numite și polizaharidaze și altele.

Peptidazele. Catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor peptidice terminale; în această grupă sunt cuprinse: dipeptidazele, aminopeptidazele și carboxipeptidazele.

Dipeptidazele scindează hidrolitic dipeptidele; este necesar ca legătura peptidică să fie vecină unei grupe $-NH_2$ sau $-COOH$ libere.

Aminopeptidazele hidrolizează legătura peptidică formată de un aminoacid care are gruparea $-NH_2$ liberă.

Carboxipeptidazele hidrolizează legătura peptidică formată de aminoacidul terminal care are gruparea $-COOH$ liberă.

Aceste enzime se găsesc în pancreas sub formă inactivă; trecerea lor în forme active se face sub influența tripsinei.

Endopeptidazele intervin hidrolitic asupra legăturilor peptidice mai depărtate de capetele catenei polipeptidice; prin acțiunea lor nu rezultă aminoacizi liberi, ci fragmente polipeptidice mai mici.

Pepsina, o enzimă proteolitică cunoscută de multă vreme, este o endopeptidază care intervine hidrolitic asupra moleculelor de proteine native. Este elaborată de glandele stomacale sub formă inactivă de pepsinogen. În prezența acidului clorhidric din sucul gastric, pepsinogenul se transformă în pepsină activă.

Prin acțiunea pepsinei sunt hidrolizate circa 30% din legăturile peptidice, rezultând polipeptide de diferite mărimi, dar și cantități mici de aminoacizi liberi.

Tripsina este, de asemenea, o endopeptidază și acționează asupra legăturilor peptidice, care nu au fost atacate de pepsină; ea continuă hidroliza inițiată de aceasta.

Tripsina este secretată de pancreas sub formă inactivă de tripsinogen. Acesta trece în tripsină activă sub influența enterokinazei, secretată de mucoasa intestinală.

Chimotripsina este o altă endopeptidază care este secretată de pancreas sub formă de chimotripsinogen inactiv. Chimotripsinognul determină coagularea laptelui, dar nu și a sângelui, în timp ce tripsina nu coagulează laptele, dar coagulează repede sângele.

Chimotripsinogenul se activează în prezența tripsinei, având loc o proteoliză limitată catalizată de către aceasta.

Chimotripsina scindează unele proteine la polipeptide mai simple, putând să se elibereze și aminoacizi. Se consideră că acțiunea chimiotripsinei este legată de prezența grupării carboxil din molecula tirozinei, fiind hidrolizată gruparea peptidică la care a participat acest carboxil.

2.5.4. Liaze

Liazele formează o clasă de enzime care catalizează scindarea unor legături din molecula substratului, fără intrvenția moleculei de apă.

Rupturile se petrec la nivelul legăturilor C-C; C-O; C-N (exceptând legătura peptidică) și C-S.

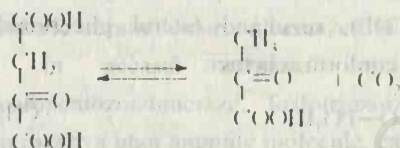
Cele mai importante liaze sunt decarboxilazele cetoacizilor și aminoacizlor, aldolazele, desulfhidrazele.

Decarboxilazele cetoacizilor. Numite și carboxilaze, aceste enzime catalizează reacția de decarboxilare a α-cetoacizilor, rezultând aldehide conform schemei:



După poziţia grupării cetonice din acidul ce joacă rol de substrat, pot fi α-cetodecarboxilaze şi β-cetodecarboxilaze. Astfel, piruvatdecarboxilaza este o α-cetodecarboxilază care poate decarboxila acizii α-cetonici începând cu acidul piruvic. Gruparae prostetică a acestei enzime este tiaminpirofosfatul (TPP) şi este activată de cationii de Mg^{2+}.

β-Cetodecarboxilazele catalizează decarboxilarea acizlor β-cetonici; astfel, oxalacetatdecarboxilaza elimină dioxid de carbon din acidul cetosuccinic:

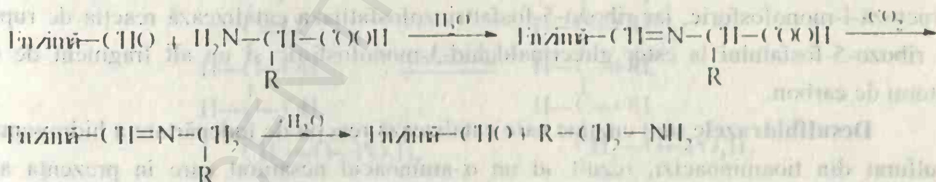


Unele decarboxilaze catalizează eliminarea dioxidului de carbon din acizii dicarboxilici, de exemplu: malonatdecarboxilaza, succinatdecarboxilaza etc. Aceste enzime conţin, pe lângă ATP, CoA, şi biotină, ele putând cataliza şi reacţiile inverse, de carboxilare. Biotina are rolul important de a activa dioxidul de carbon şi în această stare poate carboxila un substrat. Aceste enzime fac parte din categoria C-C liaze.

Decarboxilazele aminoacizilor. Catalizează reacţiile de decarboxilare anaerobă a aminoacizilor, după schema:



Gruparea prostetică din componenţa acestor enzime conţine piridoxal-5-fosfatul, gruparea aldehidică fiind implicată direct în reacţie, după următorul mecanism:



După numele aminoacidului care joacă rol de substrat rezultă şi denumirea enzimei catalizatoare, de exemplu: histidindecarboxilază, lizindecarboxilază, ornitindecarboxilază, tirozindecarboxilază ş.a.m.d.

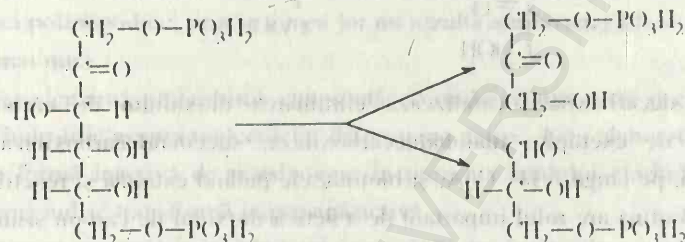
Trecerea acidului cisteinic în taurină este catalizată de cisteindecarboxilază, conform schemei:



Enzimele din această grupă se găsesc în țesuturile animale, fiind identificate în ficat, dar și în vegetale și în microorganisme.

Aldozele. Numite și aldehidliaze, aldolazele catalizează scindarea legăturii C-C din monozaharide fosforilate, formând produse cu grupe carbonilice. Substratul asupra căruia acționează este 1-6-monozo-difosfatul, din care rezultă două molecule de triozofosfați, motiv pentru care acestor enzime li se spune și triozofosfatliaze. În această categorie de enzime sunt incluse: aldolaza, fosfofructoaldolaza, ribozo-5-fosfattriozofosfatliaza.

Aldoza catalizează reacția de rupere a legăturii C-C din molecula esterului fructozo-1,6-difosforic (FDP), rezultând esterul glicerinaldehid-3-fosforic și esterul dioxiacetonmonofosforic, conform schemei:



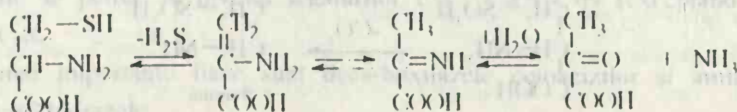
Această reacție apare în procesul glicolizei. Enzima care o catalizează se găsește în mușchi și practic în toate celulele în care are loc descompunerea anaerobă a monozaharidelor. Se găsește și în drojdii. Enzima își exercită acțiunea în prezența unor cationi metalici (Fe^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}).

Aldoza poate cataliza și reacția inversă, de condensare a esterilor triozomonofosforici.

Fosfofructoaldolaza catalizează reacția de scindare nehidrolitică a esterului fructoză-1-monofosforic, iar ribozo-5-fosfattriozofosfatliaza catalizează reacția de rupere a ribozo-5-fosfatului la ester glicerinaldehid-3-monofosforic și un alt fragment de doi atomi de carbon.

Desulfhidrazele sunt enzime care catalizează reacția de îndepărtare a hidrogenului sulfurat din tioaminoacizi, rezultând un α-aminoacid nesaturat care în prezența apei elimină amoniac și apare un α cetoacid.

Reprezentanții mai importanți din acest grup de enzime sunt cisteindesulfhidraza și homocisteindesulfhidraza. Prima dintre acestea catalizează reacția de eliminare a hidrogenului sulfurat din cisteină, rezultând acid α-aminoacrilic; acesta în prezența apei elimină amoniac și se formează acidul piruvic. Reacțiile se pot schematiza în modul următor:



Cealaltă enzimă, homocisteindisulfhidrază catalizează eliminarea hidrogenului sulfurat din homocisteină, iar ca produs final apare acidul α-cetobutiric.

Deoarece enzimele din această subgrupă catalizează scindarea legăturii C-S poartă și denumirea de C-S liaze.

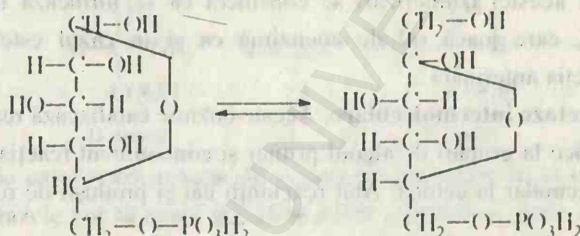
2.5.5. Izomeraze

Izomerazele reprezintă o clasă de enzime care catalizează reacții de rearanjări intramoleculare de substrat.

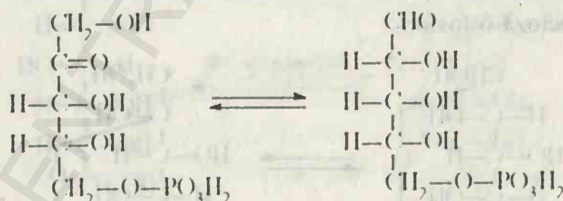
Cele mai importante enzime din acastă clasă sunt: fosfoizomerazele, fosfomutazele, oxidoreductazele intramoleculare, racemazele și epimerazele.

Fosfoizomerazele. În această catgorie intră următoarele enzime: fosfohexozoizomeraze, fosfopentozoizomeraze, fosfotriozoizomeraze. Denumirile lor sugerează reacțiile de izomerizare a unor anumite molecule, care au un rol de substrat.

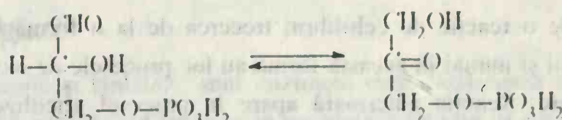
Fosfohexazoizomerazele catalizează transformarea reversibilă a esterului glucoză-6-monofosforic în ester fructoză-6-monofosforic:



Fosfopentozoizomerazele catalizează transformarea esterului ribulozo-5-fosforic în ester ribozo-5-fosforic și invers:



Fosfotriozoizomerazele catalizează trecerea esterului glicerinaldehid-3-fosforic în fosfodioxiacetonă:



Aceste fosfoizomeraze se găsesc în ficat, în mușchi, în plante și în drojdii; ele intervin în procesele metabolice ale zaharurilor.

Fosfomutazele. Sunt enzime care catalizează reacția de schimbare a poziției în cadrul aceleiași molecule a restului de acid fosforic, încât produșii inițial și final ai

reacției sunt izomeri de poziție. Astfel de enzime sunt: fosfoglucomutaza și fosfogliceromutaza.

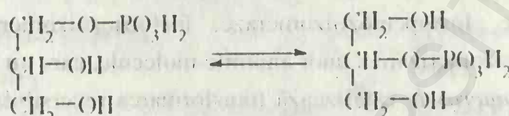
Prima catalizează reacția de izomerizare a esterului glucoză-1-fosforic în ester glucoză-6-fosforic. Se consideră că reacția are loc prin formarea intermediară a esterului glucoză-1, 6-difosforic, în prezența unei enzime fosforilante (donatoare de $-PO_3H_2$):







Fosfogliceromutaza catalizează reacția de izomerizare a esterului glicerin-3-fosforic în ester glicerin-2-fosforic, conform schemei:

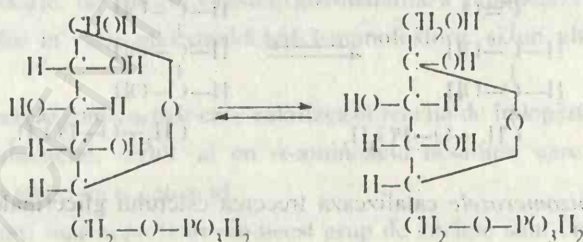


Și în cazul acestei izomerizări se consideră că se formează intermediar esterul glicerin-difosforic, care joacă rol de coenzimă ca și în cazul esterului glucoză-1,6-difosforic, din reacția anterioară.

Oxidoreductaze intermoleculare. Aceste enzime catalizează reacția de reducere a grupărilor aldehidice la grupări de alcool primar și concomitent reacția de oxidare a unei grupe de alcool secundar la cetonă. Atât reactanții cât și produșii de reacție sunt izomeri de funcție.

Cele mai cunoscute enzime din această subgrupă sunt: fosfohexozoizomerazele, fosfopentozoizomerazele, fosfotriozoizomerazele.

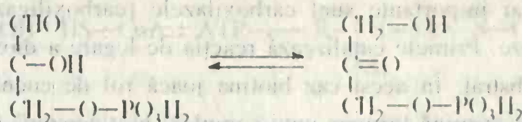
Fosfohexozoizomeraza catalizează reacția de transformare a esterului glucoză-6-fosforic la ester fructoză-6-fosforic:



Aceasta este o reacție de echilibru; trecerea de la o formă la alta are loc prin deschiderea ciclului și numai în această formă au loc procesele de oxidoreducere, urmate de o nouă ciclizare. Reacția anterioară apare în procesul glicolizei, când esterul lui Robinson se transformă în esterul Neuberg.

Acțiunea catalitică a fosfopentozoizomerazelor este analoagă celei a fosfohexozoizomerazei.

Fosfotriozoizomeraza catalizează izomerizarea esterului glicerinaldehid-3-fosforic la ester dihidroxiaceton-3-fosforic:

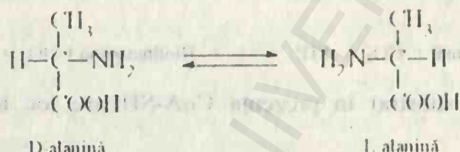


Este de acceptat că această izomerizare este precedată de o enolizare, respectiv o tautomerie.

Racemazele și epimerazele. Catalizează reacții de schimbare a configurației compușilor racemici și respectiv de epimerizare.

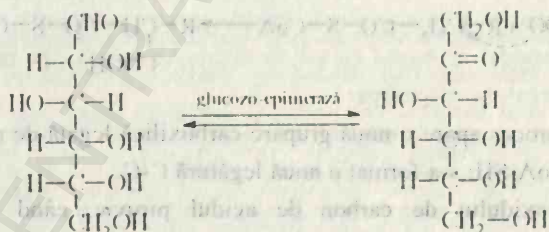
În prezența racemazelor, moleculele organice optic-active dextrogire sunt transformate în antipozii lor optici, levogiri. Reacția este de mare importanță, deoarece organismele vii utilizează, de preferință, formele levogire ale compușilor optic-activi.

Din categoria racemazelor fac parte alaninracemaza, glutamatracemaza și altele. Prima catalizează transformarea alaninei, care conform configurației sale aparține seriei D, în alanină ce aparține seriei L:



D-alanină L-alanină

Epimerazele catalizează reacția de trecere a epimerilor de la o formă la alta. Se înțelege că epimerazele pot să apară numai în cazul zaharurilor, unde apare și fenomenul de epimerie (diferențiere numai la carbonul 1 și 2). Un exemplu bine cunoscut este epimerizarea glucozei la fructoză:



Exemple se găsesc în întraga clasă a monozaharidelor, care sunt implicate în procesele metabolice.

2.5.6. Ligaze

Ligazele numite și sintetaze sunt enzimele care catalizează reacțiile de sinteză, caracterizate prin formare de noi legături, în prezența ATP-ului ca sursă de energie:

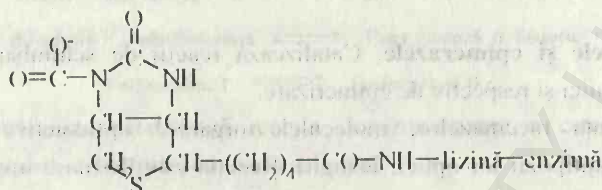


$$A + B + ATP \rightleftharpoons A\text{-}B + AMP + PP(H_4P_2O_7)$$

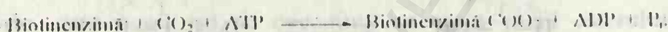
Se pot forma noi legături C-C; C-O; C-N; C-S etc.

Aceste enzime au rol important în procesele anabolice care duc la formare de proteine, lipide etc.

Ca ligaze, mai importante sunt carboxilazele (carboxiligaze), acil-CoA-ligaze, aminoacid-ARN-ligaze. Primele catalizează reacția de legare a dioxidului de carbon de către o moleculă substrat. În acest caz biotina joacă rol de coenzimă, care activează molecula de CO_2 și determină formarea unui complex: biotinenzimă-COO, cu următoarea structură:



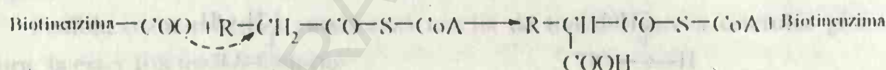
Biotina este legată de enzimă prin intermediul lizinei; în acest complex CO_2 este activ și se transferă unui substrat activat sub formă de acil-CoA. Fixarea dioxidului de carbon de către biotină are loc numai în prezența ATP-ului, ca donor de energie și a cationului Mn^{2+}.



Activarea unui substrat în prezența CoA-SH are loc în prezența ATP-ului și cationului de Mg^{2+}:

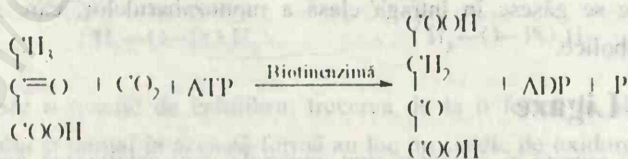


Transferul dioxidului de carbon substratului astfel activat se poate schematiza în modul următor:



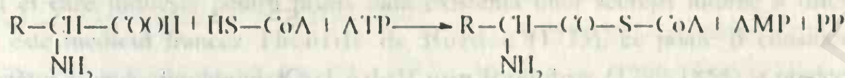
Prin acest proces apare o nouă grupare carboxilică legată de molecula substratului activat inițial de CoA-SH; s-a format o nouă legătură C-C.

Legarea dioxidului de carbon de acidul piruvic, când se formează acidul cetosuccinic, se poate reprezenta în modul următor:



Fazele procesului sunt identice celor schițate anterior. Astfel de procese biochimice, catalizate de ligaze, stau la baza formării acizilor grași.

Aminoacid-ARN-ligazele catalizează procesul de participare a aminoacizilor la biosinteza proteinelor. Și în acest proces aminoacidul este activat de CoA-SH, legându-se de acesta printr-o legătură tioesterică:



Restul de aminoacid activat poate fi apoi transferat unui substrat, proces la care este implicată ARN-ligaza.

3 HORMONI

3.1. Aspecte generale

3.1.1. Definiție. Istoric

Hormonii se pot defini ca substanțe organice de natură endogenă, secretate în cantități extrem de mici de glande endocrine sau de alte țesuturi specializate, care pătrund prin circuitul sanguin în tot organismul și au proprietatea de a stimula și coordona funcționarea unor organe sau țesuturi-țintă, procese metabolice sau activitatea întregului organism. Deci hormonii își manifestă acțiunea asupra unor organe și țesuturi mai îndepărtate de locul secreției, fără a exclude posibilitatea lor de a acționa și asupra unor celule și țesuturi forte apropiate de locul de secreție (cazul testosterolului). Acțiunea înalt specializată a hormonilor nu este recepționată decât de formațiuni celulare caracteristice și capabile de a intercepta acțiunea unui hormon, care are o anumită structură chimică.

Trebuie menționat și faptul că există hormoni care au proprietatea de a inhiba funcționarea unor organe sau țesuturi.

Cuvântul hormon provine din limba greacă (hormao = a excita, a stimula, a activa, a pune în mișcare) și a fost introdus în știință de către Ernest Henry Starling (1866-1927) în anul 1905. Necesitatea introducerii unui termen științific cu caracter de generalizare s-a ivit imediat după ce au fost cunoscute substanțe biologic-active care își manifestă acțiunea biostimulatoare mai departe de locul secreției. În acest sens se poate exemplifica descoperirea secretinei de către Bayliss și Starling (1902), hormon care stimulează secreția pancreasului (secretina fiind un hormon tisular produs de mucoasa duodenală).

Observații și constatări asupra existenței unor organe care au rol de a coordona unele procese fiziologice s-au făcut de multă vreme. Primele cercetări experimentale cu caracter endocrinologic aparțin fiziologului Adolf Berthold (1803-1861) care, prin extirpare și transplantare a testiculelor la cocoși, a dedus că aceste organe transplantate nu mai pot acționa prin nervii lor și că „producția lor" trebuie să acționeze asupra organismului prin intermediul sângelui (1848-1849). Tehnica castrării animalelor în scopul exploatării lor superioare era cunoscută de multă vreme.

Cel care intuieşte pentru prima dată existenţa unor secreţii interne a diferitelor organe este medicul francez Theofile de Bordeu (1775), ce poate fi considerat un premergător al endocrinologiei. Karl Adolf von Basedow (1799-1854) şi predecesorii săi, Caleb Hillier Parry şi Robert James Graves descriu hipertiroidismul (1825-1840). Observaţii asupra funcţionării glandelor suprarenale a făcut Thomas Addison (1793-1860) care, în 1855, a descris insuficienţa corticosuprarenală, cunoscută sub numele de boala lui Addison.

În anul 1855, fiziologul francez Claude Bernard (1813-1878) a introdus termenul de „secreţia internă", făcând diferenţa între secreţiile glandulare externe şi interne, putând fi considerat un pionier al endocrinologiei. El a pus în evidenţă funcţia glicogenetică a ficatului şi rolul pancreasului în digestia grăsimilor, făcând dovada secreţiei interne a unui organ.

Brown Secquard a utilizat pentru prima dată (1899) în terapeutică un preparat hormonal, obţinut din testicul de cobai. El este primul care consideră că hipofiza şi gonadele sunt glande endocrine. În anul 1901, a fost descoperită şi izolată adrenalina de către Aldrich şi Takamine. A urmat apoi izolarea şi studierea acţiunii altor hormoni, punându-se bazele ştiinţifice ale endocrinologiei.

Unul dintre fondatorii acestei discipline ştiinţifice pe plan mondial şi întemeietorul şcolii româneşti de endocrinologie este savantul Constantin I. Parhon (1874-1969) care împreună cu M. Goldstein au publicat la Paris (1909) prima carte din lume ce tratează probleme de endocrinologie cunoscute la acea vreme, intitulată : *Les Sécrétions Internes* (Pathologie et Physiologie).

3.1.2. Glandele endocrine

Glandele sunt organe existente în corpul animal unde au rol de a elabora şi secreta anumite substanţe, unele biologic-active. Se cunoaşte un număr mare de glande şi deci, in organismul animal, apar multe substanţe secretate, ca rezultat al activităţii acestor glande.

După mediul în care îşi expulzează secreţia, glandele se clasifică în glande exocrine sau cu secreţia externă şi glande endocrine sau cu secreţie internă. Din prima categorie fac parte glandele salivare, stomacale, intestinale, mamare, sudoripare şi altele. Din cea de a doua categorie fac parte acele glande care sunt lipsite de o conductă de eliminare, produsele lor de secreţie pătrunzând direct în sânge, deci într-un mediu din interiorul organismului (endo-înăuntru şi crinein a elimina). Unele glande au caracter mixt, de exemplu pancreasul, ovarele.

Existenţa unor organe cu rol major în coordonarea proceselor biologice a fost observată încă din antichitate: Hipocrat din Kos (460-375 î.e.n.), Galenus (130-200 sau 210).

Prima descriere a unei glande aparţine lui Bartolomeo Eustache, care în secolul al XVI-lea descrie glandele suprarenale.

Progrese importante în cunoaşterea glandelor endocrine şi a produselor secretate de acestea s-au realizat în secolul al XIX-lea şi mai ales în secolul al XX-lea.

În organismul omenesc, glandele endocrine se găsesc în diferite părți ale corpului, așa precum se observă și din fig. 3.1.

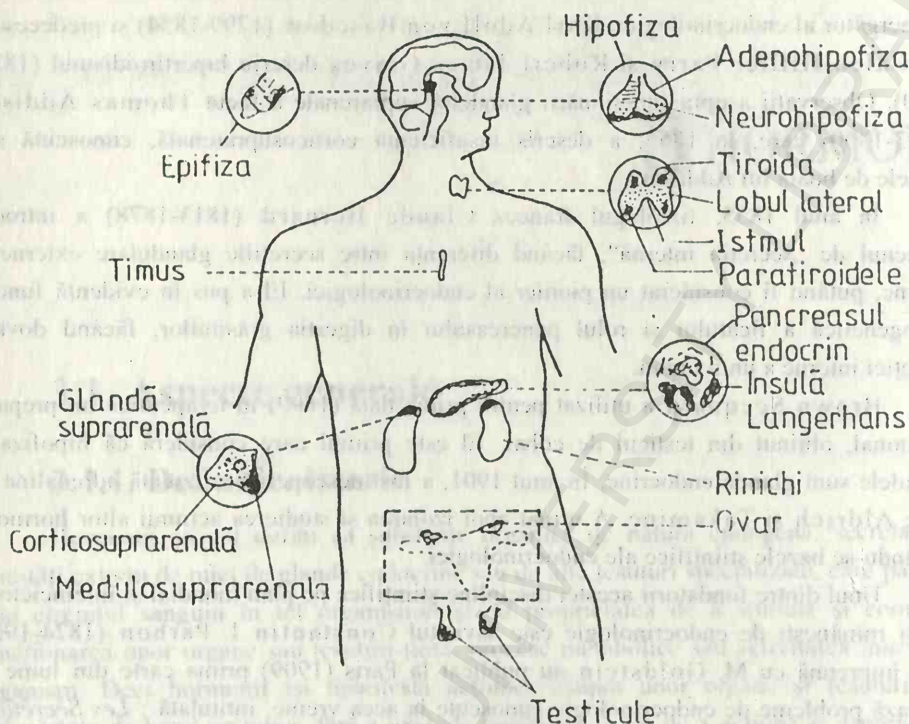


Fig. 3.1. Poziția glandelor endocrine.

Totalitatea glandelor cu secreție internă formează sistemul endocrin: hipofiza, epifiza, tiroida, paratiroidele, timusul, pancreasul, suprarenalele și glandele sexuale numite și gonade (testicule, respectiv ovare). Pentru organismele feminine, în sistemul endocrin intervine și placenta, care are rol de glandă cu secreție internă numai pentru anumite perioade.

Sistemul endocrin îndeplinește un rol esențial în metabolism, în procesul dezvoltării organismului și diferențierii unor organe și țesuturi precum și în coordonarea activității organismului animal. Acțiunea sistemului endocrin este strâns legată de cea a sistemului nervos, între acestea existând interacțiuni dialectice.

Glandele endocrine prezintă câteva proprietăți particulare și anume o structură histologică proprie, fiind alcătuite din celule în care se produce biosinteza hormonilor care, după secreție, pătrund direct în sânge. Celulele secretoare sunt specializate, ele având proprietatea de a produce compuși biologic-activi, care au o anumită structură chimică. Cantitatea de hormon secretată este variabilă, activitatea glandei fiind reglabilă. Există o strânsă legătură între funcționarea glandelor endocrine și produsele biologic-active secretate de ele, adică hormonii secretați pot interveni stimulând sau inhibând activitatea de secreție a altor glande.

3.1.3. Biosinteza hormonilor

Formarea hormonilor ca produşi chimici are loc în glandele endocrine şi se realizează prin procese biochimice enzimatice, deosebit de complexe, care prezintă particularităţi pentru fiecare loc de biosinteză.

Substanţele chimice necesare proceselor de biosinteză hormonală, numite precursori, condiţionează apariţia hormonilor. Absenţa enzimelor specifice perturbă procesele de formare a hormonilor.

Substanţele chimice necesare în biosinteza hormonilor sunt substanţe organice cu moleculă mică, care pot să apară în organism şi aparţin acizilor graşi, aminoacizilor, sterolilor, cât şi acidului acetic sub formă reactivă, de acetilcoenzima A. Unii hormoni elaboraţi în glande sub formă activă pătrund în sânge unde sunt inactivaţi temporar prin legare de proteine, care manifestă şi un rol protector asupra lor. Alţii însă apar sub formă de prehormoni, care devin activi numai după ce ajung la celula-ţintă.

Procesele biochimice prin care precursorii se transformă în hormoni depind de natura chimică a precursorului; de exemplu, tirozina constituie aminoacidul de plecare pentru formarea tiroxinei. Prin iodurarea tirozinei în glanda tiroidă şi condensarea a două molecule de diiodotirozină se formază tiroxina. Unii aminoacizi pot fi decarboxilaţi sau hidroxilaţi şi pot duce la apariţia de hormoni cu moleculă mică.

Hormonii steroizi au drept precursori sterolii şi mai ales colesterolul. Acest colesterol se poate biosintetiza în organism chiar din acid acetic, sau poate fi introdus o dată cu hrana zilnică. Prin procese de oxidare biochimică a catenei laterale din poziţia 17, a funcţiei alcoolice din poziţia 3 cât şi prin procese de dehidrogenare sau de oxidare în poziţia 11 a moleculei de ciclopentano-perhidro-fenantren, se formează diferite substanţe biologic-active. Dacă astfel de procese au loc în corticosuprarenală, rezultă hormoni corticosteroizi; dacă sterolii sunt supuşi transformărilor biochimice la nivelul celulei hepatice, apar acizi biliari, iar dacă transformările se petrec în testicule sau ovare, se formează hormoni sexuali.

Aminoacizii apăruţi în organism prin hidroliza proteinelor alimentare, sau biosintetizaţi, sunt molecule mici care vor intra în constituţia hormonilor cu structură peptidică şi proteică. Biosinteza acestor hormoni este asemănătoare procesului de biosinteză a proteinelor, dar de importanţă majoră în apariţia unei structuri sau a alteia este, pe de o parte, celula glandei endocrine unde se petrece procesul biochimic şi, pe de altă parte, enzima specifică.

Funcţionarea glandelor endocrine în elaborarea de hormoni cât şi secreţia lor este reglată şi controlată atât pe cale nervoasă, cât şi pe cale hormonală proprie, înţelegând prin aceasta că prezenţa unui hormon într-o anumită concentraţie în plasma sanguină poate influenţa secreţia glandei care l-a elaborat.

Funcţionarea glandelor endocrine poate fi uneori perturbată, când apare o hiposecreţie sau hipersecreţie, ducând la stări patologice caracteristice.

Se consideră că, în general, depozitul de hormoni din celula de biosinteză poate atinge necesarul pentru o zi de funcţionare.

Mulți hormoni au fost obținuți și pe cale de sinteză și au utilizări în terapeutică.

3.1.4. Clasificarea hormonilor

Se cunosc mai multe criterii de clasificare a hormonilor.

a) *După glanda în care sunt elaborați*, rezultă următoarea clasificare: hormoni tiroidieni, suprarenali, sexuali, epifizari și ai glandei timus. Se observă că, după această clasificare, de la același organ de elaborare, rezultă hormoni cu structuri chimice și proprietăți biologice diferite.

b) *După structura chimică a moleculei*, se disting trei categorii de hormoni:

hormoni derivați din aminoacizi (tiroxina, adrenalina, noradrenalina și alții);

hormoni peptidici și proteici având moleculele formate prin încatenarea aminoacizilor prin legături peptidice. Ca exemple de hormoni peptidici sunt cei pancreatici (insulina și glucagonul) și ai hipofizei posterioare (ocitocina și vasopresina) etc. Hormonii proteici au molecula alcătuită dintr-un număr mare de aminoacizi, încatenați de asemenea prin legături peptidice, formând macromolecule proteice. Din această categorie fac parte hormonul paratiroidian (parathormonul), hormonii hipofizei anterioare (hormonul de creștere sau STH, hormonul adrenocorticotrop sau ACTH, hormonii gonadotropi etc.); hormonii hipofizei intermediare. Hormonii cu structură proteică se numesc și proteohormoni;

hormoni steroizi, derivați ai sterolilor din categoria cărora fac parte hormonii cortico-suprarenali (cortico-steroizi) și sexuali (hormoni ovarieni și testiculari).

c) Se poate considera și un al treilea criteriu de clasificare a hormonilor, acela al *proceselor biologice asupra cărora acționează hormonii*. După acest criteriu se pot distinge hormoni cu acțiune metabolică, hormoni cu acțiune morfogenetică, hormoni cu acțiune endocrină, deci care acționează asupra funcției altor glande etc. Aceasta este o clasificare mai puțin folosită.

Un hormon cu acțiune predominant biochimică este insulina. Mulți hormoni au însă și funcție biochimică intervenind în procesele metabolice și funcție morfogenetică; exemple din această categorie constituie hormonii sexuali, unii hormoni hipofizari etc. Ca exemple de hormoni cu rol biologic endocrin sunt hormonii hipotalamici.

În afară de hormonii secretați de glandele endocrine se cunosc multe substanțe biologic-active cu proprietăți biologice asemănătoare hormonilor, care însă sunt elaborate de anumite țesuturi specializate; aceștia se numesc hormoni tisulari.

3.1.5. Rolul hormonilor în organism

În organismul animal hormonii au numeroase roluri, fiecare având o importanță deosebită. Unii hormoni îndeplinesc mai multe roluri, dintre care cel puțin unul are efect hotărâtor în organism, alte acțiuni ale aceluiași hormon fiind însoțite de efecte secundare sau de importanță inferioară, comparativ cu un efect determinant. De exemplu, hormonii sexuali au rol determinant în apariția caracterelor sexuale secundare, dar în același timp influențează și procesele metabolice.

Acțiunea hormonilor în celula-țintă poate avea loc dacă aceasta este înzestrată cu receptori hormonali specifici. Conceptul de receptor a fost introdus de către Langley (1905), considerând existența unei „substanțe receptive" care constituie sediul acțiunii unor substanțe cu activitate biologică. S-a dovedit mai târziu că acest concept este indispensabil pentru o bună înțelegere a modului de acțiune a compușilor biologic-activ.

Receptorii hormonali se găsesc pe membrana celulelor-țintă sau în interiorul celulei, în citoplasmă sau nucleu. Practic, acești receptori hormonali sunt formațiuni proteice, înalt specializate, de o anumită conformație și se găsesc în cantități foarte mici în celulele-țintă; ei au afinitate preferențială pentru un anumit hormon, pe care îl pot identifica și selecta, formând cu acesta complexul receptor-hormon.

Dacă natura hormonului este peptidică, proteică sau este un derivat de aminoacid, receptorul se află pe suprafața membranei celulei-țintă și sub formă de receptor-hormon are loc traversarea membranei. Hormonii cu structură steroidă au proprietatea de a traversa mai ușor membrana celulară și, pentru acești hormoni, receptorii se găsesc în citoplasmă sau chiar în nucleul celulei. O celulă este înzestrată numai cu un anumit tip de receptori, capabili de a selecta hormoni cu aceeași structură chimică.

Compleeșii receptor-hormon sunt mesagerii intracelulari de ordinul I și au proprietatea de a interveni în reglarea proceselor biochimice din celula-gazdă.

Interacțiunea celulei-țintă cu hormonul variază în funcție de concentrația hormonului în sânge; dacă aceasta crește, afinitatea celulei față de hormoni se intensifică un timp, dar dacă concentrația hormonului rămâne ridicată, celula nu mai interacționează cu hormonul. Interacțiunea celulei față de hormon este influențată și de *p*H.

Prin structura lor chimică, hormonii vor influența într-o anumită măsură procesele biochimice, iar acțiunea lor fiziologică apare drept consecință, uneori tardivă, a acțiunilor chimice anterioare.

Mecanismele de acțiune a hormonilor se manifestă:

la nivelul membranei celulare;

în procesul biosintezei proteinelor;

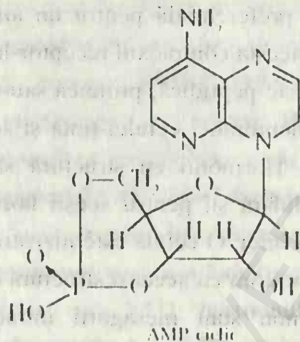
la nivelul sistemelor enzimatice din celule.

Cercetările au pus în evidență faptul că hormonii au proprietatea de a modifica permeabilitatea membranelor celulare, favorizându-se trecerea în interiorul celulelor a unor molecule sau ioni de care acestea au nevoie pentru integritatea funcțiilor lor. Este cunoscut că hormonii adenohipofizari (ACTH, TSH) favorizează trecerea glucozei în celule. Insulina determină trecerea mai rapidă a glucozei în celule, unde va fi metabolizată.

Hormonii, în mod deosebit cei steroizi, intervin în procesul de biosinteză a proteinelor și mai ales a proteinelor specifice. În aceste biosinteze, hormonii activează anumite gene care declanșează biosinteza ARN-ului. Acesta este ARN-ul mesager care ajunge la ribozomi și servește drept matrice pentru biosinteza proteinelor.

Hormonii pot activa unele sisteme enzimatice la nivelul membranelor celulare. Astfel, complexul receptor-hormon (mesager de ordin I) activează enzima adenilatciclaza care se găsește în membrană (membrana celulară are o structură complexă) și care

scindează ATP-ul in AMP-ciclic, acesta din urmă fiind mesager de ordin II. Acest mesager ciclic favorizează în continuare formarea de alti hormoni (mesageri de ordin III) în interiorul celulei-țintă. AMP-ciclic poate activa enzima numită proteinkinază (enzimă fosforilantă a proteinelor din ribozomii celulelor-țintă), determinând apariția altor reacții din citoplasmă. De asemenea, proteinkinaza catalizează fosforilarea unei proteine enzimatice, sub influența ATP-ului. S-a pus în evidență că atât AMP-ciclic cât și adenilatciclaza se găsesc în toate organismele, începând de la bacterii, până la mamifere. Cei mai mulți hormoni activează adenilatciclaza, rezultând AMP-ciclic.



AMP ciclic

Trebuie subliniat că AMP-ciclic intervine și în metabolismul glucidelor, a biosintezei glicogenului. De asemenea, AMP-ciclic stimulează activitatea mai multor enzime.

Hormonii au un rol esențial in procesul biosintezei și activării enzimelor, prin activarea aparatului genetic specializat în biosinteza proteinelor. Acțiunea hormonilor în biosinteza enzimelor este argumentată de acțiunea hormonilor steroizi care intervin in biosinteza proteinelor biologic-active și mai ales a enzimelor. Folosind dietilstilbestrolul, care pătrunde in citoplasmă și în nucleu, s-a ajuns la concluzia că acesta interacționează cu ADN-ul din nucleu și cu ARN-ul cu ajutorul cărora controlează biosinteza proteinelor enzimatice.

Prin administrarea de testosteronă la animale cu suprarenalele extirpate, s-a constatat că apar proteine noi in ficat și enzime.

Unii hormoni ca: adrenalina, ACTH-ul, TSH-ul, glucagonul, prolactina și alții, activează lipaza specifică trigliceridelor.

Trebuie subliniat că în organism există o strânsă corelație între hormonii endocrini și sistemul nervos. Toate glandele endocrine primesc o inervație vegetativă cu rol excitator și de secreție, deci glandele și funcționarea lor sunt influențate de sistemul nervos. Hormonii, la rândul lor, exercită influențe importante asupra structurilor nervoase, începând cu creierul. De mare importanță este proprietatea hormonilor de a manifesta acțiuni de autocontrol și autoreglare a secreției endocrine (mecanism feed-back). Autoreglarea apare pe cale umorală, determinată de prezența hormonilor, manifestându-se prin amplificarea sau inhibarea secreției unui hormon. În același timp, hormonii manifestă in organism acțiuni de adaptare, metabolice și de reproducere.

Hormonii au rol primordial în desfăşurarea normală a multor funcţiuni ale organismului, începând cu diferenţierea sexuală a embrionului, procesul lactaţiei, dezvoltarea fizică a organismului după naştere şi apariţia şi dezvoltarea facultăţilor intelectuale şi psihologice ale omului.

Deoarece fiecare hormon îndeplineşte în organism şi o acţiune selectivă, intervenind asupra unor procese bine conturate şi de mare importanţă biologică, s-a creat posibilitatea folosirii lor în terapeutică.

3.1.6. Antagonişti hormonali

Antagoniştii hormonali sunt substanţe organice cu proprietăţi medicamentoase, care pot interveni asupra funcţionării unei glande endocrine, modificând sau influenţând viteza de reacţie. Exemple clasice de antagonişti hormonali se găsesc tot în categoria hormonilor endocrinici. Organismul animal are proprietatea de a elabora, pentru acelaşi proces, atât hormoni ce stimulează acel proces, cât şi hormoni cu rol inhibitor. Astfel, glucagonul, hormon pancreatic, are o acţiune hiperglicemiantă, explicată prin acţiunea sa de stimulare a procesului de glicogenoliză hepatică şi trecerea glucozei în sânge. Insulina, de asemenea hormon pancreatic, are acţiune hipoglicemiantă (opusă glucagonului), explicată prin accelerarea oxidării glucozei în ţesuturi şi transformarea glucozei în glicogen şi inhibarea procesului de gluconeogeneză.

De asemenea, insulina are acţiune opusă adrenalinei, iar hormonul diabetogen, produs de lobul anterior al hipofizei, are acţiune opusă insulinei (este numit şi contrainsulină).

Unii hormoni peptidici şi proteici, în concentraţii mai mari, pot determina apariţia în organismul animal a unor anticorpi, care au proprietăţi antihormonale.

În procesul de catabolizare a hormonilor apar produşi cu structuri chimice modificate faţă de cea a hormonului iniţial, produşi care au proprietăţi antihormonale. Prin această cale sau prin alta, hormonii se pot inactiva. Astfel, adrenalina este inactivă prin oxidare la adenocrom. De asemenea, prin conjugare cu acid glucuronic, la nivelul ficatului, hormonii cu grupe fenolice sunt inactivaţi: este cazul catecholaminelor.

Acţiunea hormonilor mai poate fi anihilată prin blocarea receptorilor specifici de către unele medicamente şi în consecinţă hormonul nu mai poate fi detectat şi reţinut de către celula-ţintă.

3.1.7. Importanţa hormonilor în zootehnie

Tratamentul cu hormoni este deseori reclamat de zootehnie, fie în scopuri terapeutice, fie în scopul ameliorării producţiei animaliere şi a reproducţiei. Practic, hormonii tuturor glandelor, respectiv hormonii tiroidieni, hipofizari, cortico- şi medulosuprarenali şi cei sexuali prezintă importanţă deosebită pentru sectorul zootehnic.

Câteva exemple scot în evidenţă importanţa terapiei hormonale şi actualitatea ei în comunităţile de animale.

Astfel, lipsa hormonului hipotalamo-posthipofizar numit vasopresină determină pierderea propritării rinichiului de a reţine şi concentra urina. În această stare la unele

animale (canine, cabaline) apare diabetul insipid, caracterizat prin mare consum de apă (polidipsie). În acest caz, se folosesc extrogeni, ca benzoat de estradiol, care amplifică efectul vasopresinei, sau se administrează vasopresină. Uneori se pot folosi și extracte neurohipofizare.

Lipsa hormonilor mineralocorticoizi atrage perturbarea metabolismului hidric și mineral. În cazul apariției unor stări de intoxicație, infecții etc., pentru tratarea animalelor domestice se folosește aldosteronul. Glucocorticoizii se folosesc în cazul proceselor inflamatorii, când, pentru precauție, se recomandă și administrarea de antibiotice. Dintre glucocorticoizii folosiți în terapeutica veterinară se pot exemplifica: cortizona, cortizolul, dehidrocortizolul (prednisolonă), fluorhidrocortizona și alți produși sintetici. Tratamentul cu glucocorticoizi (cortizonă, hidrocortizonă, prednisonă, prednisolonă) se aplică în cazul apariției la cabaline a unor maladii frecvente ca: urticarie, poliartrită, intoxicații, diaree, prolaps uterin, bronșită cronică, pneumonii virale și altele. Glucocorticoizii se folosesc și în tratamentul unor maladii care apar la porcine, tineretul cabalin etc.; de asemenea, ei sunt reclamați și de unele afecțiuni ce apar la taurine (indigestii, tulburări hepatice, hepatite degenerative, emfizem pulmonar alergic etc.).

ACTH-ul se folosește în cazul unor boli ce apar la taurine și cabaline (meningite, hipocalcemii, tetanie etc.); el influențează și lactația.

Dacă apare scăderea tensiunii arteriale se folosesc hormonii medulosuprarenali.

În caz de diabet zaharat la cabaline și taurine (care apare foarte rar), pus în evidență prin simptome de oboseală, slăbire, polidipsie și poliurie, se utilizează insulina.

În tulburările de reproducție ce se ivesc la animale se folosesc hormoni sexuali și gonadotropi. Tratamentul cu progesteronă duce la bune rezultate în cazul vacilor și junicilor, iar gestogenii au rol important în reproducția cabalinelor. Hormonii sexuali se folosesc și la îngrășarea unor animale, dar stimulează și procesul de formare a laptelui (mai ales la oi și capre). Producția de lapte poate fi sporită prin administrarea de STH, extracte hipofizare și hormoni sexuali.

3.2. Hormoni ai glandelor endocrine

Hormonii endocrini, după ce au fost sintetizați de către celulele glandelor specifice, pătrund în sânge, care constituie calea principală de vehiculare a lor în organism. Exceptând glanda tiroidă, celelalte glande endocrine nu au proprietatea de a forma rezerve de hormoni.

Concentrația hormonilor în sânge este foarte mică; astfel, concentrația testosteronei este de 10^{-7} moli/litru, iar a tiroxinei de 10^{-8} moli/litru. După pătrunderea lor în sânge, hormonii sunt transportați, căutând o formă inactivă de complecși cu unele proteine plasmatice, de tipul β- sau γ-globulinelor. Ajunși la celula-țintă ei sunt eliberați și devin activi.

Hormonii nefolosiți de către organism sunt eliminați pe cale urinară, unii dintre ei fiind catabolizați în prealabil la nivelul ficatului sau transformați în forme inactive prin

conjugare. Hormonii cu structura polipeptidică, ca insulina și hormonii hipofizari, se degradează ușor, încât nu pot fi identificați în urină. Hormonii cu structuri simple, derivați din aminoacizi sau cu structură sterolică, pot fi identificați și dozați atât în sânge, cât și în urină; din urină mulți hormoni se pot separa și folosi.

Este de subliniat proprietatea hormonilor endocrini de a fi extrași din organele sau urina unor specii de animale și refolosiți în cazuri de insuficiență hormonală sau pentru tratarea unor maladii ce apar la alte specii. Hormonii nu sunt deci specifici unei specii; această proprietate permite folosirea hormonilor extrași din glandele animalelor în terapia umană.

3.2.1. Hormoni tiroidieni

Generalități. Glanda tiroidă este un organ localizat în fața traheei, pe care o au toate animalele vertebrate. Dimensiunile ei sunt variabile, fiind mai mari la femei decât la bărbați. În organismul uman, această glandă este alcătuită din doi lobi simetrici, uniți printr-un istm de țesut conjunctiv, încât apare sub forma literei H. Cântărește între 12 și 35 g, reprezentând între 0,01-0,03% din greutatea corporală, fiind cea mai mare glandă endocrină.

Prima dată a fost descrisă de Wharton (1656); observații privind vascularizarea și rolul ei au fost făcute de Rush și Hofrichter (1820). Gull este primul (1874) care a observat că există o corelație între atrofierea glandei și unele simptome caracteristice, generate în realitate de hipofuncția glandei (boala Gull). În 1895, Magnus-Levy a arătat că glanda tiroidă influențează metabolismul și că boala Gull se manifestă printr-un consum redus de oxigen și un metabolism bazal scăzut.

Basedow este primul care a sesizat unele tulburări ale funcției glandei (1840), descriind aspectele clinice caracteristice, determinate de funcționarea excesivă a glandei (hipertiroidism sau boala Basedow).

Glanda tiroidă, așa cum se observase anterior, este foarte vascularizată, debitul ei sanguin fiind de 600 ml/100 g țesut într-un minut.

Țesutul glandei tiroide este format din foliculi, formațiuni anatomice de dimensiuni mici, care au proprietatea de a secreta un lichid vâscos, de natură coloidală, galben-brun, bogat în iod, numit coloidul tiroidian; acest lichid este foarte bogat în iod (Baumann 1895), conținând aproximativ 20% din cantitatea de iod ce se găsește în organism. Constituentul cel mai important al coloidului tiroidian este o glucoproteidă iodurată, numită tiroglobulină (Ostwald, 1899). Tiroglobulina are masa moleculară de 660 000; *p*H-ul ei izoelectric este de 4,48 și se denaturează ușor la *p*H mai mic de 5. Posibilitatea captării iodului de către tiroglobulină este foarte rapidă; în 13 secunde, după administrare de iod radioactiv, se poate decela apariția radioactivității în glanda tiroidă.

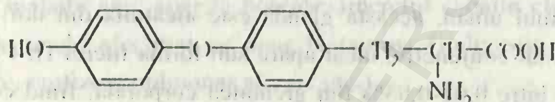
Prin iodurarea tiroglobulinei, atomul de iod se leagă, printr-un proces de substituție, de puțini aminoacizi, din componența acestui proteid rezultând derivați iodurați ai tirozinei, histidinei și troninei. Practic, se iodurează nucleele aromatice din componența acestor aminoacizi, nuclee ce dau ușor reacții de substituție cu halogeni.

Derivații iodurați ai tironinei, eliberați din componența tiroglobulinei iodurate, sunt singurii care au proprietăți hormonale.

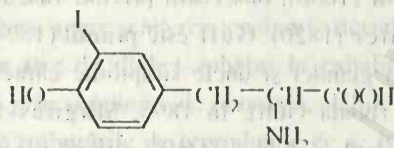
Biosinteza hormonilor tiroidieni. Principalul hormon tiroidian (considerat multă vreme) este tiroxina sau tetraiodotironina, izolată din hidrolizatele țesutului integral al glandei tiroide sau din hidrolizatele tiroglobulinei (Kendall, 1919). Din tiroida bovinelor s-a izolat mai târziu alt hormon tiroidian numit triiodotironina, identificat și în plasma sanguină (Gross, 1952); în 1955 s-a identificat un izomer al său.

Structura chimică a tiroxinei a fost confirmată prin sinteză de către Harington (1926). Există asemănare între sinteza tiroxinei *in vitro* și mecanismul biosintetic.

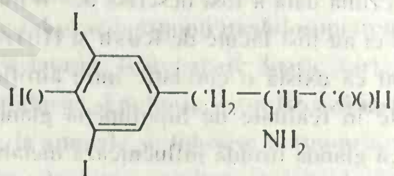
Din hidrolizatele glandei tiroide s-au mai izolat: tironina (1915), monoiodtirozina, diiodtirozina, 3,3'-diiodtironina (1955), 3,3',5-triiodtironina (1952), 3,5,3'-triiodtironină (1955); precum și iodtiroxamine, iodhistidine etc. Acești compuși au următoarele structuri:



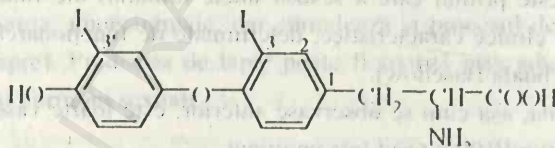
Tironina (eterul p-hidroxifenilic al tirozinei)



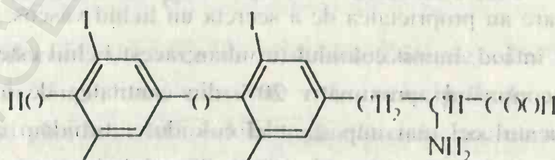
3-Monoiodtirozina



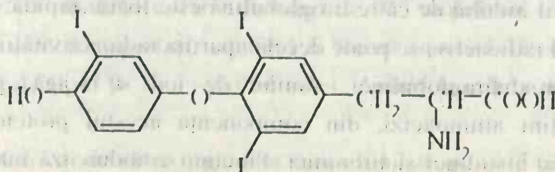
3,5-Diiodtirozina



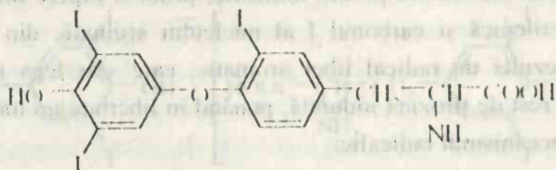
3,3'-Diiodtironina



Tiroxina (3,3',5,5' tetraiodtironina)



3,3',5-Triiodtironina



3,3',5' Triiodtironina

Compușii iodtironinici constituie hormonul tiroidian, existent în plasma sanguină; în glanda tiroidă, în stare liberă, ei se găsesc în cantități mici, de 1-3% din total.

În procesul de biosinteză a hormonilor tiroidieni, tirozina și iodtirozinele trebuie considerate drept precursori. Acest proces este enzimatic și decurge în mai multe etape, care se petrec în foliculii tiroidieni.

Iodul care pătrunde în organism o dată cu alimentele se găsește în ioduri, deci sub formă de anioni I⁻. Anionul de iod nu este reacționabil, însă are proprietatea de a fi reținut de o proteină receptoare, probabil prin legături de tip sare. Celulele tiroidiene au proprietatea de a reține și concentra anionul I⁻ de 200 ori mai mult decât alte celule din organism. Această proprietate este stimulată de hormonul tireotrop al adenohipofizei (TSH).

Urmează faza a II-a când anionul de iodură este oxidat pe cale enzimatică la iod elementar. Reacția are loc sub influența unei peroxidaze, de exemplu glucozooxidaza, care determină oxidarea glucozei, în prezența apei la acid gluconic, cu formarea apei oxigenate:



$$\text{Glucoză} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{glucozooxidaza}} \text{Acid gluconic} + H_2O_2$$

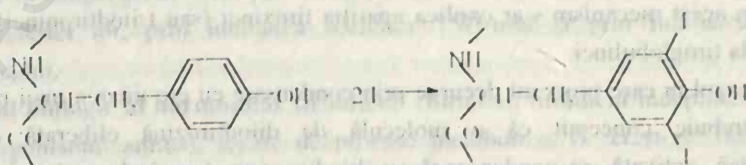
Procesul biochimic este mai complex.

Apa oxigenată transformă oxidativ anionul de iod la iod atomic, proces cunoscut ce se petrece cu ușurință și în eprubetă:



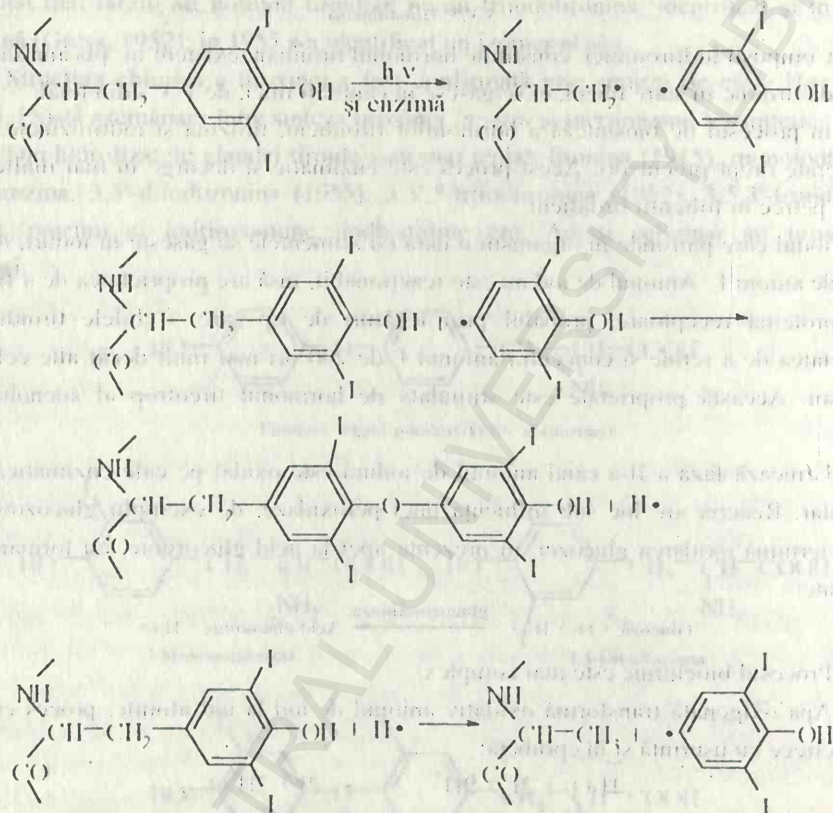
$$H_2O_2 + 2I^- + 2H^+ \longrightarrow 2I + 2H_2O$$
$$O_2^{2-} + 2I^- \longrightarrow 2I + 2O^-$$

Iodul elementar rezultat, ca orice atom liber, este foarte reactiv; el declanșează cea de a III-a fază a procesului biochimic și anume iodurarea nucleului aromatic al tirozinei. Această reacție se petrece foarte ușor și în laborator. În glanda tiroidă însă iodul elementar atacă numai tirozina care este încatenată în molecula tiroglobulinei, sub influența enzimei tirozin-iodaza (o iodinază), introducându-se în nucleul aromatic unul sau doi atomi de iod, în poziția 3 sau 3' și 5 (în *orto* față de grupa fenolică):

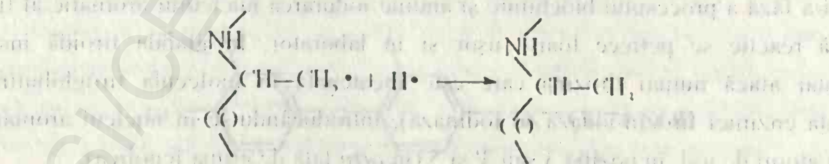


În faza a IV-a, prin condensarea a două resturi de diiodtirozină, apare tetraiodtironina cu eliminarea unei molecule de alanină. Procesul este însă deosebit de complex.

Considerând că are loc un proces radicalic, printr-o rupere homolitică a legăturii dintre gruparea metilenică și carbonul 1 al nucleului aromatic din molecula iod- sau diiodtirozinei, ar rezulta un radical liber aromatic, care s-ar lega repede de oxigenul fenolic de la un alt rest de tirozină iodurată, punând în libertate un hidrogen atomic, care ar putea continua mecanismul radicalic:

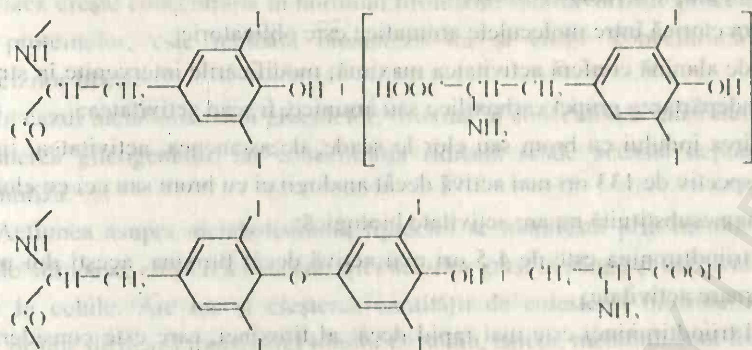


Mecanismul radicalic inlănțuit s-ar intrerupe prin coligare:



Prin acest mecanism s-ar explica apariția tiroxinei (sau triiodtironinei) incatenată în molecula tiroglobulinei.

În cazul în care procesul decurge prin condensare cu eliminarea unei molecule de alanină, trebuie conceput că o moleculă de diiodtirozină eliberată din catena polipeptidică, activată, se condensează cu diiodtirozina, formându-se tetraiodotironina, încatenată în molecula de tiroglobulină:



Și în cazul acestui mecanism trebuie admis că au loc ruperi homolitice de legături C-C, declanșându-se un proces radicalic. Eliberarea unei molecule de diiodtirozină poate să apară printr-o hidroliză, când se poate elibera și monoiodtirozina, ambele fiind precursori ai tironinelor.

Eliberarea iodtironinelor din structura tiroglobulinei are loc printr-un proces de tiroglobulinoliză, după ce aceasta a fost preluată sub formă de picături, prin pinocitoză, de către celulele foliculare și ajunge în contact cu enzimele din lizozomi, eliberatoare. Prin hidroliza tiroglobulinei se pun în libertate mono- și diiodtirozina, pe lângă hormonii tiroidieni și aminoacizii; procesul este stimulat de TSH (hormon adenohipofizar) și inhibat de excesul de anioni de iod. Aminoacizii iodurați sunt supuși unui proces de eliminare a iodului, care va fi refolosit la biosinteza iodtironinelor. Hormonii tiroidieni eliberați sunt preluați de proteinele plasmatice, afinitatea lor fiind de 10 ori mai mare pentru trioxină, decât pentru triiodotironină. Aceasta explică eliberarea mai lentă a tiroxinei, concentrația ei ajungând la jumătate în 6-7 zile, iar perioada de înjumătățire a triiodtironinei este de 1, 5 zile. În celule și țesuturi, unde hormonii tiroidieni găsesc celulele lor țintă, cea mai mare parte din tiroxină este trecută în triiodtironină, deducându-se că ultima este hormonul tiroidian propriu-zis, iar tiroxina ar juca și rol de prohormon.

Peste 99% din tiroxină circulă legată de proteine plasmatice și doar 0,05% se găsește în stare liberă; aceasta se consideră forma biologic-activă, forma legată de proteine constituind tiroxina de rezervă.

Reglarea biosintezei și secreției hormonilor tiroidieni se realizează de hipotalamus cu ajutorul hipofizei, care prin acțiunea TSH-ului stimulează biosinteza hormonilor și trecerea lor în sânge. Pe de altă parte, înșiși hormonii tiroidieni din plasmă intervin în reglarea secreției lor, prin inhibarea secreției TSH-ului și prin inhibarea secreției hipotalamusului.

Rolul biologic al hormonilor tiroidieni. Hormonii tiroidieni îndeplinesc multiple roluri în organismul animal, legate de procese metabolice, de creștere, dezvoltare și maturizare a acestuia. Aceste roluri se manifestă foarte de timpuriu; se știe că la om glanda tiroidă începe să funcționeze încă din stadiul uterin, din luna a III-a sau a IV-a.

Pentru a-și manifesta acțiunile biologice este necesar ca hormonii să-și păstreze integritatea structurii lor chimice:

prezența grupării fenolice libere;

legătura eterică între moleculele aromatice este obligatorie;

restul de alanină conferă activitatea maximă; modificările intervenite în structura acestuia, fără îndepărtarea grupei carboxilice sau aminice, îi scad activitatea;

înlocuirea iodului cu brom sau clor le scade, de asemenea, activitatea; tiroxina este de 13 și respectiv de 133 ori mai activă decât analogii ei cu brom sau cei cu clor;

tironina nesubstituită nu are activitate biologică;

3,5,3' triiodtironina este de 4-5 ori mai activă decât tiroxina, acești doi produși având cea mai mare activitate;

efectul triiodtironinei este mai rapid decât al tiroxinei, care este considerată ca un precursor al primei.

Acțiunea biologică a hormonilor tiroidieni se desfășoară practic la nivelul tuturor celulelor din organismul animal și în cea mai mare parte în mitocondrii, după ce s-au legat cu receptorii specifici din celula-țintă.

Hormonii tiroidieni acționează asupra metabolismului substanțelor energetice, determinând creșterea consumului de oxigen și a vitezei de oxidare, ceea ce are ca rezultat creșterea metabolismului bazal. Apare o acțiune calorigenă, de intensificare a reacțiilor oxidante la nivelul mitocondriilor, mai ales în mușchi, inimă, ficat, rinichi, piele și alte organe, exceptând creierul, splina, plămânii, retina și gonadele. Aproximativ 40% din energia calorică a organismului este dirijată de acești hormoni. Sub influența hormonilor tiroidieni este accelerat catabolismul protidic, lipidic și glucidic; concomitent însă apar și procese anabolice, care determină fenomene de creștere și dezvoltare.

Acțiunea metabolică a acestor hormoni se exercită prin influența ce o au asupra enzimelor care catalizează procesele bioenergetice. Ei stimulează respirația mitocondriilor și energia eliberată prin oxidare servește la fosforilarea ADP la ATP. În același timp, ei stimulează formarea coenzimelor flavinice (FMN și FAD), a citocromilor, a ubichinonelor, care intervin în procesele oxidoreducătoare.

Hormonii tiroidieni stimuează creșterea cantitativă a unui număr mare de enzime (sintetaze, fosfataze etc., peste 100), ceea ce se reflectă în metabolizarea accelerată a glucidelor; crește și cantitatea de enzime în mitocondrii.

Tiroxina intervine și în modificarea permeabilității membranelor de la nivelul mitocondriilor. Creșterea concentrației în hormoni tiroidieni duce la îmbibarea mitocondriilor, concretizată prin umflarea lor, urmată de accelerarea oxidărilor și eliberarea de căldură, putând apărea întreruperea reacțiilor de fosforilare oxidativă.

Luând în discuție acțiunea hormonilor tiroidieni asupra substanțelor plastico-energetice (glucide, lipide și proteine) se ajunge la concluzia că ea se exercită atât pe cale anabolică, cât și catabolică.

Acțiunea anabolică se manifestă prin stimularea biosintezei proteice, explicată prin biosinteza mărită a ARN mesager și ribozomal; se formează noi ribozomi și în consecință transformarea aminoacizilor în proteine este crescută; apar deci noi proteine biosintetizate.

Dacă crește concentrația în hormoni tiroidieni, sunt favorizate procesele catabolice asupra proteinelor, este inhibată biosinteza lor și crește concentrația în sânge a aminoacizilor liberi.

În cazul metabolismului glucidelor, tiroxina în concentrație mică duce la formarea și depunerea glicogenului, iar concentrația ridicată scade această depunere, activând glicogenoliza.

Acțiunea asupra metabolismului lipidelor se manifestă prin metabolizarea lor în țesuturile adipoase, creșterea concentrației acizilor grași în sânge și accelerarea vitezei de oxidare în celule. Are loc și creșterea cantității de colesterol biosintetizat. Hormonii glandei tiroide dirijează transportul ionilor de sodiu, calciu, metabolismul fosfo-calcic.

Acțiunea metabolică a hormonilor tiroidieni este strâns corelată cu acțiunea insulinei, hormonilor sexuali etc.

Trebuie subliniată acțiunea stimulatorie a acestor hormoni în procesul creșterii și maturizării organismelor animale. Ei stimulează dezvoltarea corporală, procesul de osificare, formarea sistemului nervos, a aparatului cadiovascular, creșterea dinților; reglează funcțiile respiratorii și renale.

Rolul acestor hormoni în dezvoltarea sistemului nervos se observă chiar în faza intrauterină; insuficiența lor duce la scăderea numărului de neuroni, mielinizare insuficientă a fibrelor nervoase, scăderea procentului de apă în toate structurile nervoase; poate să apară o insuficientă dezvoltare a intelectului sau chiar cretinism. Ei stimulază procesele de diferențiere celulară.

Acești hormoni determină excitarea sistemului nervos, accelerarea bătăilor inimii, creșterea mișcării peristaltice a intestinului.

Perturbări ale funcției glandei tiroide. Funcția glandei tiroide poate să fie perturbată, în diferite etape ale vieții putând să apară o hipofuncție (hipotiroidism) sau o funcție excesivă, deci o hiperfuncție (hipertiroidism).

Hipotiroidismul se manifestă printr-o secreție insuficientă de hormoni tiroidieni și poate să apară la tineri sau la maturi. Dacă hipofuncția glandei este cauzată de o leziune a ei apare hipotiroidism primar; dacă însă hipofuncția este cauzată de hipofiză sau hipotalamus apare hipotiroidism secundar și respectiv terțiar.

În cazul unui hipotiroidism prenatal, boala se manifestă la 5-6 luni de la naștere prin mixedem congenital. Creșterea scheletului întârzie, osificarea este insuficientă, dinții apar foarte târziu, sistemul nervos se dezvoltă insuficient, putându-se ajunge la cretinism. Dacă insuficiența tiroidiană apare la 3-4 ani, duce la mixedemul juvenil. Se observă perturbarea creșterii și a psihicului, țesuturile nu se diferențiază, apare plictiseala, apa este rținută în țesuturi, apare balonarea abdomenului. Bolnavul are memorie slabă, vorbește greu, se găsește într-o stare de somnolență.

La adulți, hipofuncția poate duce la mixedemul adultului, când apare infiltrarea de mucoproteide sub piele, reținere de apă și poate să apară gușa. În mod obișnuit gușa apare ca rezultat al lipsei iodului din apă și alimente, ceea ce perturbă biosinteza iodtironinelor. În această situație, hipofiza secretă mai mult TSH, stimulând funcția tiroidei. În efortul ei productiv se produce hipertrofia glandei, respectiv apare gușa endemică (cauzată local).

Bolnavul prezintă un metabolism scăzut, constipaţie, slabă activitate intelectuală, tendinţă spre îngrăşare, apare friabilitatea părului şi unghiilor, scăderea ritmului cardiac (bradicardie). Se indică în acest caz administrarea de iod în apă şi alimente.

Hipertiroidismul constă în secreţie excesivă de hormoni tiroidieni şi se manifestă prin boala Basedow, însoţită uneori de guşă hipertiroidiană. Maladia apare mai frecvent la femei, fiind generată de un exces de TSH sau de prezenţa γ-globulinei (imunoglobulină) care are proprietatea de a stimula pentru lungă durată secreţia tiroidei (Long Acting Stimulator). Acest „stimulator" prezent în sângele hipertiroidienilor se indică prescurtat prin iniţiale LATS şi are aceeaşi acţiune ca şi TSH, dar mult mai prelungită.

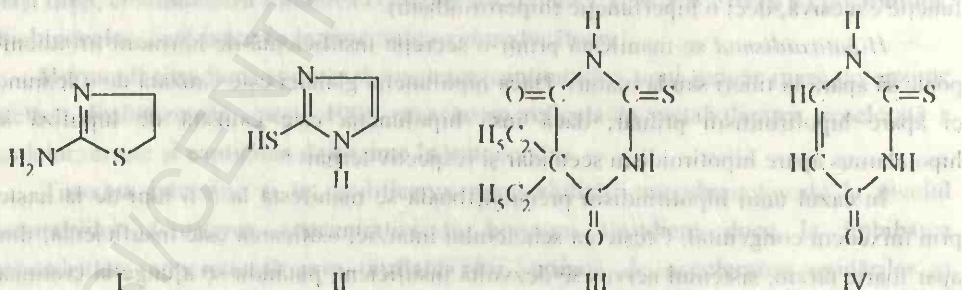
În hipertiroidism creşte metabolismul bazal, ochii sunt strălucitori şi parcă vor să sară din orbite (exoftalmie); apar următoarele fenomene: clipire şi lăcrimare mai frecventă, nervozitate, astenie, insomnie, tahicardie, faţă caracteristică şi de multe ori este prezentă şi guşa hipertiroidică. Datorită metabolismului excesiv organismul slăbeşte. Uneori hipertiroidienii vorbesc repede, au pronunţie proastă, sau chiar discontinuitate în vorbire, sărind cuvinte. Pot să apară şi manifestări cutanate şi intoleranţă la căldură.

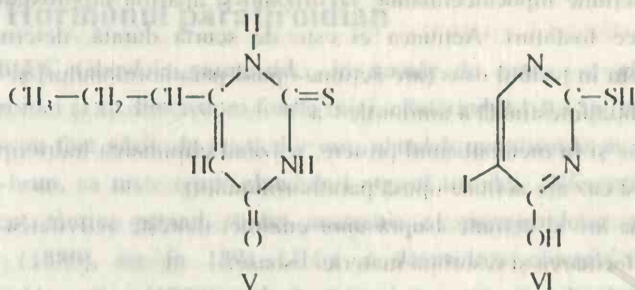
Boala se tratează pe cale chirurgicală, extirpând o parte din glandă sau folosind medicamente antitiroidiene.

Medicamente antitiroidiene. Se cunosc multe substanţe organice care au proprietatea de a inhiba acţiunea iodtironinelor. Unele medicamente pot inhiba procesul de biosinteză în glanda tiroidă, iar altele împiedică pătrunderea şi concentrarea anionului de iod în glandă.

Din prima categorie fac parte derivaţi de tiouree, polifenoli, derivaţi de tiouracil, unii compuşi aromatici şi heterociclici.

Ca exemple se pot cita: 2-aminotiazol (I), 2-mercaptoimidazol (II), acid dietiltiobarbituric (III), 2-tiouracilul (IV), propiltiouracil (V) iodtiouracil (VI):





Folosirea medicamentelor în hipertiroidism are drept scop menținerea îndelungată a unui metabolism normal și evitarea intervenției chirurgicale; medicamentele se pot folosi, un timp, și înaintea operației.

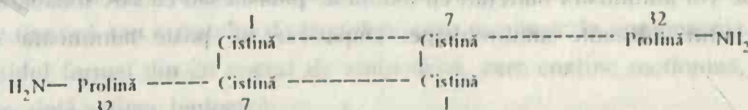
Din categoria compușilor ce împiedică pătrunderea iodului în glandă fac parte anionii de sulfocianat, fluoroborat, perclorat etc. Chiar iodul, în concentrație ridicată, are acțiunea antitiroidiană. În tratarea hipertiroidismului însoțit de gușă se folosește și iodura de potasiu.

Deoarece glanda tiroidă prezintă o anumită sensibilitate și joacă un rol dintre cele mai mari în organism, folosirea medicamentelor antitiroidiene se face numai la indicația și sub controlul medicului.

Calcitonina. Numită și tirocalcitonină, calcitonina a fost izolată din tiroida porcinelor, ea găsindu-se și în glanda tiroidă a animalelor tinere în cantități relativ mari, iar în cantități mai mici în glanda tuturor animalelor. Este secretată de celulele intestinale ce înconjoară foliculii, numite celule C sau parafoliculare. Calcitonina are o structură polipeptidică, unicatenară, alcătuită de 32 de aminoacizi, a căror încatenare este cunoscută. Conține în plus doi atomi de sulf, care formează o legătură disulfurică, între aminoacizii 1 și 7, închizând un ciclu, existent de altfel și în structura altor polipeptide biologic-active. Structura ei chimică a fost confirmată pe cale sintetică (Rittel, Sieber și alții, 1968).

Prin reducerea lgăturii disulfurice, dispare activitatea biologică a calcitoninei. Această substanță se găsește și în tiroida puiului de găină, având masa moleculară mai mică decât a celei extrase din tiroida porcinelor.

Cercetările au pus în evidență că în tumoarea canceroasă a tiroidei umane acest polipeptid se găsește sub formă de calcitonina M (formă monomoleculară) asemănătoare structural cu cea extrasă din tiroida animalelor, precum și sub formă dimeră (calcitonina D) prin apariția legăturilor covalente între resturile de cistină, ce se găsesc în monomeri în poziția 1 ---.-7.



Forma dimeră trece ușor, în soluții tampon, în calcitonină M.

Acțiunea biologică a calcitoninei se manifestă prin reglarea metabolismului calciului și fosforului, concomitent cu acțiunea hormonului paratiroidian. Practic,

calcitonina are acțiune hipocalcemiantă, favorizând și apariția hipofosfatemiei; în doze mai mari produce fosfaturi. Acțiunea ei este de scurtă durată, determinând legarea cationilor de calciu în țesutul osos (are acțiune opusă parathormonului) și în același timp se produce absorbția intestinală a ionilor de Ca^{2+}.

Are acțiune și în metabolismul proteic, scăzând eliminarea hidroxiprolinei pe cale urinară (și în acest caz are acțiune opusă parathormonului).

Calcitonina are și acțiune asupra unor enzime: mărește activitatea pirofosfatazei, care intervine în formarea și resorbția materiei osoase.

Rolul hormonilor tiroidieni în zootehnie. La unele animale pot să apară forme de hipertiroidism determinate de hiperfuncția glandei tiroide, generată de acțiuna secreției altor glande, ca de pildă hipofiza. Astfel de perturbări se întâlnesc la bovine, cabaline, ovine, caprine, iepuri, câini. Se observă în acest caz tahicardie, slăbire, emotivitate, tremurături; apare mărirea tiroidei.

Se poate interveni în diminuarea secreției hipofizo-tireotrope cu iod, iodură de potasiu, ion de perclorat sau de cianat; se mai pot folosi hormoni corticoizi, ACTH și unii compuși organici.

Pentru unele specii (cabaline tinere) se recomandă soluția de bază iodică a lui Götze. Se mai poate utiliza și tiouracilul și în unele cazuri hormonii estrogeni și androgeni.

În regiunile cu sol și sursă de apă sărace în iod apar cazuri de hipotiroidism în rândul animalelor. Poate să apară hipotiroidism congenital, atât la animalele tinere în creștere, cât și la cele adulte. Mai afectate sunt mamiferele feminine.

În hipotiroidism apar modificări ale pielii, este afectat sistemul nervos și aparatul genital. Se mai observă scăderea tensiunii, respirația mai lentă, rărirea pulsului, somnolență și tendință spre îngrășare. Scade producția de lână și lapte.

La animalele tinere hipotiroidismul se manifestă mai clar. În hipotiroidism nou-născuți nu au păr, sunt debili, mieii au lână rară, nu manifestă tendință de a suge, viața le este în pericol, iar purceii mor relativ repede, uneori chir în ziua nașterii. Creșterea tineretului animalelor, în hipotiroidism, este întârziată, iar osificația se realizează foarte încet. Viței, purceii și cățeii născuți în condițiile de hipotiroidism au picioarele mai puțin dezvoltate, iar coada și gâtul scurt. Păsările au penajul incomplet și cresc foarte greu. La bovine, ovine, câini, păsări etc., se cunosc și cazuri de cretinism.

Apare și mixedemul, mai ales la purcei și cățeï.

Tratarea hipotiroidismului la animale se face folosind în alimentație proteine iodurate (cazeine și albumine iodurate), sare iodată sau iodură de potasiu. Animalelor în gestație li se vor administra nutrețuri cu iodură de potasiu sau cu sare iodată, dacă aceste nutrețuri conțin substanțe antitiroidiene. După caz, se poate administra și tiroxină injectabilă.

3.2.2. Hormonul paratiroidian

Generalități. Glandele paratiroide, în număr de patru, se găsesc pe partea posterioară a tiroidei și au dimensiuni foarte mici, cântărind 0,1-0,15g. Ele există la toate vertebratele; nu au fost găsite la pești. La om, glandele paratiroide au formă ovoidă și culoare galben-brun, ca niște corpi glandulari atașați tiroidei. Diferențierea lor față de tiroidă s-a făcut târziu; primul studiu anatomic al paratiroidelor a fost făcut de Sanderstrom (1880), iar în 1891 Gley a determinat efectele îndepărtării lor. MacCallum și Voegtlin (1909), ținând seama de importanța calciului în organism, au stabilit efectul extirpării paratiroidelor asupra calcemiei.

Berman, Hanson și Collip (1924-1925) au obținut extracte glandulare active, demonstrându-se că aceste extracte injectate îndepărtează tetania hipocalcemică care se instalează la animale paratiroidectomizate. S-a putut pune astfel în evidență diferența dintre rolul secrețiilor tiroidiene și paratiroidiene. Substanța biologic-activă elaborată și secretată de glandele paratiroide a fost numită parathormon (PTH).

Structură chimică și proprietăți. Cercetările au pus în evidență faptul că extractul izolat din paratiroide își pierde activitatea prin hidroliză acidă sau bazică și în prezența enzimelor protolitice, deducându-se astfel structura lor polipeptidică.

Parathormonul este elaborat mai întâi sub forma unui precursor (preprohormon) alcătuit din 115 resturi de aminoacizi; acesta pierde o fracțiune polipeptidică trecând printr-un prohormon format din 90 resturi de aminoacizi care, ajungând în aparatul Golgi, se transformă în hormonul propriu-zis, în a cărui structură se găsesc 84 resturi de aminoacizi.

PTH izolat din glanda bovinelor are o greutate moleculară de 8500, având o singură catenă polipeptidică; în molecula sa nu există cistină. PTH-ul obținut din glanda porcinelor este alcătuit din același număr de aminoacizi.

PTH-ul este puțin solubil în apă, ușor solubil în soluție diluată de acid clorhidric și în alcool etilic (80%). Este hidrolizat ușor de tripsină și pepsină. Agenții oxidanți îl distrug ușor. Pe cale sintetică, s-au obținut polipeptide cu 20 și 34 aminoacizi, care au activitate biologică paratiroidiana.

În produsul natural, aminoacidul terminal este alanina, a cărui prezență este obligatorie pentru activitatea hormonală; această activitate este manifestată și de o fracțiune alcătuită din 34-35 resturi de aminoacizi considerată de la capătul final, ce conține alanină. Indiferent de proveniență, acest rest polipeptidic are o activitate de circa 75% față de cea a hormonului nescindat.

Inactivitatea hormonului rezultă prin oxidarea celor două resturi de metionină, a restului de tirozină sau a restului de triptofan, care se găsesc în componența produsului activ. Peptidul format din 20 resturi de aminoacizi, care conține metionină, tirozină și triptofan prezintă acțiune biologică.

Prin esterificare cu alcool metilic sau prin acetilare dispare activitatea hormonală.

Apariția hormonului în fluxul sanguin este influențată de calcemie. Hipocalcemiile stimulează biosinteza și secreția PTH-ului, iar hipercalcemiile inhibă apariția lui. Nu trebuie neglijată nici prezența vitaminei D în aceste procese.

Rolul biologic al parathormonului. Absența PTH-ului din organism determină apariția crizelor de tetanie, generate de scăderea calcemiei, creșterea concentrației fosfaților și scăderea fosfaturiei. Acțiunea parathormonului, de reglare a calcemiei și fosfatemiei, se manifestă la nivelul oaselor, rinichilor și tubului digestiv.

La nivelul oaselor, PTH-ul determină trecerea calciului din structura osoasă în lichide extracelular și în sânge sub formă de Ca^{2+} și în același timp are loc și resorbția fosfaților din oase; se petrece un proces de osteoliză. Această acțiune decurge încet, ea manifestându-se asupra zonelor mai stabile și mai vechi ale osului. PTH-ul activează osteoclastele (acțiune lentă), care au rol în hidroliza matricei organice osoase; formează noi osteoclaste și inhibă activitatea sau provoacă dispariția osteoblastelor (celule osoase tinere din care vor rezulta celule osoase mature, adică osteocite).

Parathormonul intervine în metabolismul intermediar: determinând creșterea cantității de acid citric și lactic, *p*H-ul scade, ceea ce favorizează osteoliza, iar acizii carboxilici leagă atomii de calciu, trecându-i în lichidele biologice: (Acidul citric se găsește în concentrații relativ mari la nivelul țesutului osos). PTH-ul își manifestă acțiunea și asupra sistemului adenilatciclază - AMP-ciclic, care activează proteinele implicate în trecerea calciului în lichide extracelulare.

La nivelul rinichiului, PTH-ul manifestă o acțiune rapidă, de stimulare a resorbției calciului în tubii renali, inhibarea resorbției fosfaților și creșterea fosfaturiei. Și în aceste procese sunt implicate sistemele enzimatice. În același timp, este favorizată absorbția calciului din alimente prin mucoasa intestinală, proces la care intervine și vitamina B_2. Se deduce în mod convingător rolul hipercalcemiant al parathormonului.

Când calcemia depășește 104 mg/litru, apare acțiunea antagonică a calcitoninei.

PTH-ul stimulează și reabsorbția magneziului, eliminarea ar[illegible]i, având rol și în respirația mitocondrială. Este de subliniat și faptul că activitatea glandelor paratiroide apare ca și a tiroidei, în faza uterină, la vârsta de 3-4 luni a embrionului.

Perturbări ale funcției paratiroidiene. Funcția glandelor paratiroide poate fi dereglată, când apar stări patologice: hipoparatiroidism și hiperparatiroidism.

Extirparea glandelor tiroide sau hipofuncția lor determină scăderea conținutului ionilor de Ca^{2+} și a fosfaților. În funcționarea normală a paratiroidelor, concentrația în ioni de Ca^{2+} este de 10 mg%, iar a ionilor HPO_4^{2-} de 4 mg%. Scăderea sub 9 mg% a calcemiei determină intervenția PTH-ului în metabolismul calciului. Dacă glandele se găsesc în stare de hipofuncție prelungită, hipocalcemia se accentuează și apare tetania hipoparatiroidiană. Ea se manifestă clinic prin scăderea poftei de mâncare, contracții musculare, mers nesigur, convulsii, creșterea temperaturii, respirație accelerată, tulburări metabolice, crize epileptice. Absența calciului din plasmă determină apariția spasmelor și la nivelul intestinului, esofagului, a vezicii urinare etc.

Simptomele caracteristice ale tetaniei hipoparatiroidiene apar la nivelul muşchilor scheletici şi al muşchilor netezi; mâna suferă o contracţie specifică. Pot să apară şi simptome neuropsihice.

Lipsa calciului din sânge poate avea şi alte explicaţii.

Cazurile de tetanie se tratează cu clorură de calciu, gluconat sau lactat de calciu şi vitamina D_2.

Hiperparatiroidismul este determinat de o hiperfuncţie a glandelor paratiroide sau de injecţii cu extracte din paratiroide. În această stare calcemia atinge valori mari de 18-20%, apare eliminarea calciului prin urină, scade concentraţia fosfatului plasmatic şi creşte raportul Ca/P în sânge. Pot să se formeze calculi în rinichi şi în căile urinare. Bolnavul acuză dureri în regiunea gastrică, apar vărsături, modificări ale electrocardiogramei.

Pot să apară hiperplazie osoasă, deformări şi fracturi ale oaselor, care se vindecă greu.

Parathormonul extras din paratiroidele bovinelor se foloseşte în terapeutică.

3.2.3. Hormonii medulosuprarenali

Generalităţi. Glandele suprarenale numite şi capsule suprarenale se găsesc localizate câte una la partea superioară a fiecărui rinichi.

Prima descriere a glandelor suprarenale a făcut-o Bartolomeo Eustachius (secolul XVI), iar importanţa lor a fost recunoscută de Addison (1849). Fiziologul Brown-Seguard (1856), cercetând suprarenalele, a tras concluzia că sunt esenţiale vieţii, dar importanţa lor pentru organism a fost recunoscută spre sfârşitul secolului al XIX-lea.

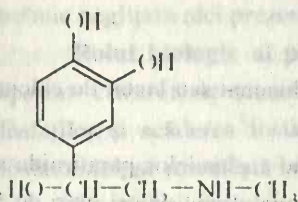
S-au descoperit mai târziu extractele medulosuprarenalei, izolându-se adrenalina şi în anul 1920 s-a acceptat ideea că nu zona medulară, ci cortexul suprarenalei prezintă importanţă vitală pentru organism.

La om, glanda suprarenală dreaptă este ceva mai mare decât cea stângă; are formă piramidală, iar cea stângă are formă hemisferică. Greutatea lor este cuprinsă între 10 şi 14g.

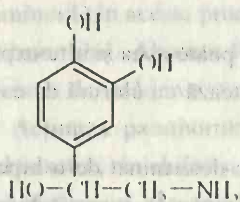
Făcând o secţiune prin glandă, se observă că ţesutul specific glandular, parenchimul, este alcătuit din două părţi diferite: corticosuprarenala, de culoare gălbuie şi zona medulară numită medulosuprarenală, de culoare mai închisă. Culoarea se explică prin proprietatea celulelor acestui ţesut de a reţine săruri de crom, de unde rezultă şi numele lor de celule cromafine. Aceasta din urmă este alcătuită din celule mici colorate, cu nucleu mare şi secretă hormonii numiţi catecholamine (adrenalina, noradrenalina şi dopamina). Zona corticală secretă un număr foarte mare de hormoni, care prezintă importanţă excepţională.

Structură chimică şi proprietăţi. Adrenalina numită şi epinefrină (adrenină, suprarenină) este primul hormon izolat în stare pură şi cristalină (Takamine, Aldrich, von Fürth, 1901). Structura ei chimică a fost dovedită prin degradări, dar mai ales prin sinteză (F. Stolz, 1903; Jowett, 1904). Din punct de vedere chimic, adrenalina este

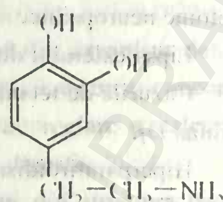
metilaminoetanolpirocatechină, noradrenalina este aminoetanolpirocatechină, iar dopamina este aminoetilpirocatechină, cu structurile chimice prezentate în continuare:



Adrenalină

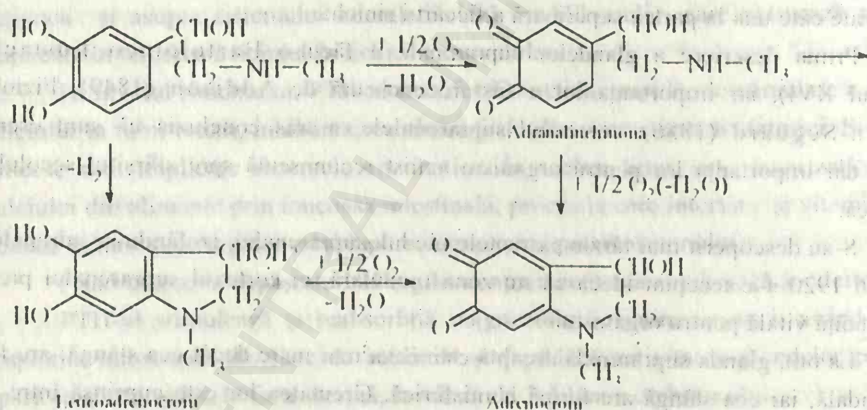


Noradrenalină

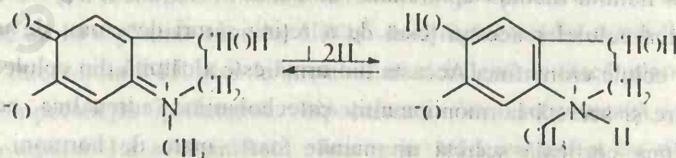


Dopamină

Adrenalina este o substanță albă, cristalină, optic-activă, produsul natural fiind levogir (α 50,5°); izomerul dextrogir are o acțiune biologică de 15 ori mai slabă decât izomerul levogir. Prin încălzire forma dextrogiră se racemizează. Cristalele de adrenalină se degradează în prezența luminii și aerului, trecând într-o culoare brună. Se dizolvă greu în apă și este insolubil în alcool, eter, cloroform. Se dizolvă ușor atât în soluții alcaline cât și acide, când formează clorhidrați. În soluții alcaline și în prezența oxigenului, adrenalina trece, prin oxidare, la adrenalinchinonă, care prin închidere de ciclu formează leucoadrenocromul, iar acesta, prin oxidare, ca și adrenalinchinona formează adrenocromul:



Adrenocromul și leucoadrenocromul au rol în metabolismul intermediar, formând un sistem oxidoreducător: primul se poate găsi sub formă de amfiion, care prin reducere trece într-o formă labilă, bipolară:



Ambele forme sunt reactive și participă la reacții biochimice ca transportori de electroni.

Noradrenalina se mai numește arterenol sau norepinefrină, și are proprietăți puțin diferite de ale adrenalinei. Și aceasta se poate oxida cu viteză mai mică decât adrenalina, rezultând noradrenocromul (urmând schema anterioară).

Adrenalina și noradrenalina se găsesc în plasma sanguină, prima găsindu-se în mare parte legată de albumine, formă sub care circulă.

Biosinteza hormonilor medulosuprarenali. Biosinteza acestor substanțe biologic-active are loc în mitocondrii (celulele medulare conțin un număr mare de mitocondrii). Cercetările efectuate cu atomi marcați au stabilit că scheletul catecholaminelor derivă din fenilalanină, iar metilul din adrenalină provine din metionină.

Etapele procesului biochimic se pot rezuma în modul următor:

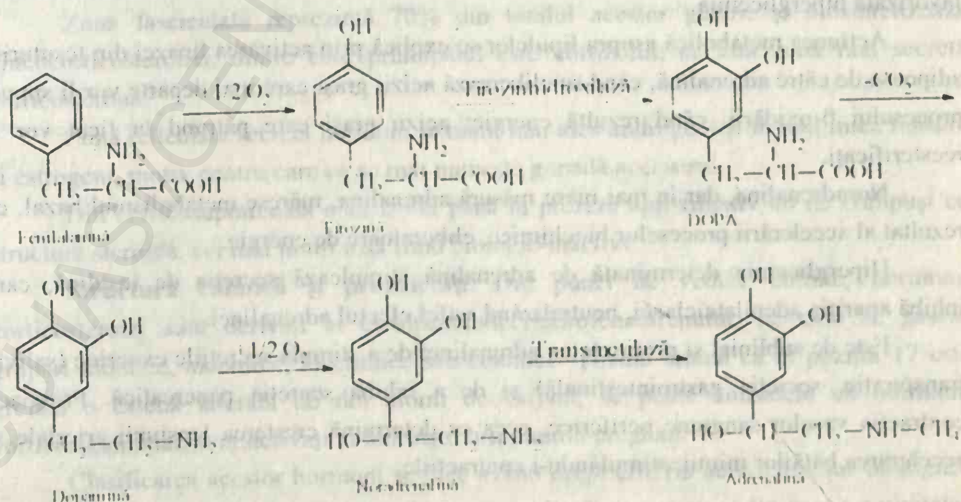
în prezența enzimei fenilalaninhidroxilază are loc oxidarea fenilalaninei la tirozină; la reacții intervine tetrahidrobiopterina în calitate de coenzimă și NADPH. Tirozina se consideră un intermediar de la care se pot obține toate cele trei catecholamine;

sub influența tirozinhidroxilazei, în prezența aceleiași coenzime ca în cazul anterior și a NADPH, tirozina este oxidată la 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA);

prin acțiunea enzimei DOPA-decarboxilază și a piridoxalfosfatului drept coenzimă (HOLTZ, 1938) are loc decarboxilarea substratului DOPA, formându-se dopamina (3,4-dihidroxifeniletilamina sau hidroxitiramina);

sub acțiunea dopaminhidroxilazei (identificată în medulosuprarenală) și în prezența unei oxigenaze însoțită de acid ascorbic, dopamina suferă o oxidare parțială la atomul de carbon secundar din catena laterală, formându-se o grupare alcoolică, rezultând noradrenalina;

pentru formarea adrenalinei, noradrenalina ca substrat este supusă acțiunii de transmetilare, reacție catalizată de o transmetilază, metionina jucând rol de donor al grupării $-CH_3$, fiind în componența S-adenozilmetioninei. Schema procesului complet ar putea fi următoarea:



După unii cercetători, în biosinteza adrenalinei intervin și corticosteorizii (Wurtman), iar trecerea ei în circulație este influențată de glucagon. Adrenalina poate fi produsă și în alte țesuturi.

Secreția hormonilor glandei suprarenale are loc în mod discontinuu, fiind influențată de sistemul nervos, de un efort fizic intens și mai ales de starea de stres, când secreția este atât de bogată încât poate provoca dureri în zona renală sau chiar stopări mai grave. Intervin și ionii de calciu, acetilcolina. Stările de hipoglicemie determină, de asemenea, o secreție mai abundentă de adrenalină. Stresurile puternice pot spori și de 10 ori secreția hormonilor medulosuprarenali sau chiar mai mult.

Rolul biologic al hormonilor medulosuprarenali. Catecholaminele intervin în procesele metabolice intermediare ale glucidelor, lipidelor și protidelor, influențând și circuitul mineral. Pentru a-și manifesta proprietățile biologice, acești hormoni se leagă mai întâi de receptorii specifici din țesuturile și celula-țintă. Receptorii specifici se găsesc în membranele celulare și sunt de două tipuri: receptori *alfa* α, care se găsesc la nivelul vaselor pielii, rinichilor, plămânului, creierului, celulelor pancreatice, a musculaturii netede și receptori *beta* β care se găsesc, mai ales, la nivelul inimii, ficatului, vaselor coronare, bronhiilor, mușchilor striați etc. Noradrenalina se leagă de preferință pe receptorii *alfa*, care au rol în contracția musculaturii netede și relaxarea ei (receptori *alfa*$_2$). Adrenalina se fixează pe receptorii *beta*, dar și pe *alfa*.

Receptorii *beta*$_1$ au rol de glicogenoliză, lipoliză, cresc contractarea inimii, iar acei receptori *beta* cu rol vasodilatator și stimulator pentru secreția glucagonului, tiroxinei, parathormonului sunt receptori *beta*$_2$.

Rezultă că hormonii medulosuprarenali au acțiune hiperglicemiantă (opusă insulinei), declanșată pe cale enzimatică. Ei activează adenilatciclaza care, la rândul ei, acționând asupra altor enzime determină degradarea hidrolitică a glicogenului hepatic la glucoză. Sub influența lor este stimulată glicogenoliza atât în mușchiul cardiac, cât și în mușchii scheletici. Receptorii *beta*$_1$ intervin și în procesul de gluconeogeneză, deci este favorizată hiperglicemia.

Acțiunea metabolică asupra lipidelor se explică prin activarea lipazei din țesuturile adipoase de către adrenalină, când se eliberează acizii grași care mai departe vor fi supuși procesului β-oxidării, când rezultă energie; acizii grași care pătrund în ficat vor fi reesterificați.

Noradrenalina, dar în mai mare măsură adrenalina, măresc metabolismul bazal, ca rezultat al accelerării proceselor biochimice, eliberatoare de energie.

Hiperglicemia determinată de adrenalină stimulează secreția de insulină, care inhibă apariția adenilatciclazei, neutralizând astfel efectul adrenalinei.

Este de subliniat și proprietatea adrenalinei de a stimula secrețiile exocrine (salivă, transpirație, secreția gastrointestinală) și de a inhiba secreția pancreatică. Provoacă contracția vaselor sanguine periferice, ceea ce determină creșterea tensiunii arteriale și accelerarea bătăilor inimii, stimulându-i contracțiile.

Noradrenalina are acțiune vasoconstrictoare mai puternică decât adrenalina asupra vaselor abdominale, rinichilor, ficatului și musculare. Efectele catecholaminelor sunt de scurtă durată, deoarece sunt repede inactivate prin oxidare.

Adrenalina determină și creșterea concentrației ionilor de Mg^{2+} și a celor de Ca^{2+}.

Catecholaminele intervin în stările de emoții și de efort fizico-psihic. Adrenalina predomină în stări de teamă - este hormonul apărării pasive, iar noradrenalina predomină în stări de furie - este hormonul apărării active.

3.2.4. Hormonii corticosuprarenali

Generalități. Deși se consideră mai de mult că partea corticală a glandelor suprarenale prezintă importanță vitală (1920), fiind apreciată ca o glandă cu secreție internă, totuși obținerea unor extracte active a fost realizată mai târziu (1929-1930) de către Swingle, Pfiffner, Hartman și colaboratorii. Aceste extracte aveau proprietatea de a menține viața animalelor ale căror suprarenale fuseseră extirpate. Studiul chimic al acestor extracte active, cu numele generic de cortine, a început în 1934-1935, efectuat de un număr mare de specialiști (Reichstein, Kendall, Wintersteiner, Pfiffner și colaboratorii), care într-o perioadă de 8-9 ani de cercetări au reușit să izoleze 30 de substanțe cristaline, cărora li s-a stabilit structura. Dintre acestea numai șase erau active. Mai târziu, din fracțiunea amorfă rămasă, Tait și Simpson (1953) au identificat și izolat pe cale cromatografică aldosterona (electrocortina), substanță foarte activă, precum și alți hormoni cu structură steroidă.

Partea corticală a glandelor suprarenale reprezintă 9/10 din totalitatea lor. Structura acestor glande nu este omogenă; din punct de vedere histologic se disting trei zone: zona externă glomerulată, zona intermediară fasciculată și zona internă reticulată. Aceste zone se diferențiază și prin natura secrețiilor biologic-active.

Zona glomerulată reprezintă 15% din cantitatea totală a corticosuprarenalelor și biosintetizează aldosterona (mineralcorticoid) și corticosteronă.

Zona fasciculată reprezintă 70% din totalul acestor glande și biosintetizează glucocorticosteroizii, dintre care principalul este cortizolul; această zonă mai secretă corticosteronă.

Zonă reticulată secretă hormoni sexuali, mai ales androgeni și în mai mică măsură și estrogeni, motiv pentru care ea se mai numește gonadă accesorie.

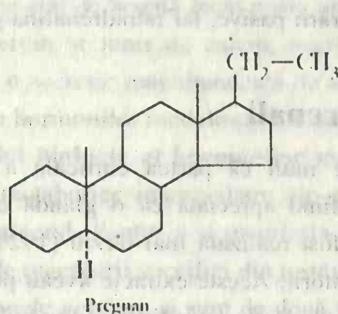
Din corticosuprarenală s-au izolat până în prezent aproximativ 40 de compuși cu structură steroidă, cei mai mulți însă fiind biologic-inactivi.

Structură chimică și proprietăți. Din punct de vedere chimic, hormonii corticosteroizi sunt derivați ai ciclopentanoperhidrofenantrenului, pe care se găsesc grupări metilice, alcoolice, aldehidice sau cetonice. Ținând seama că în poziția 17 este grefată o catenă laterală de doi atomi de carbon, se poate considera că hormonii corticosuprarenali sunt derivați ai hidrocarburii numită pregnan.

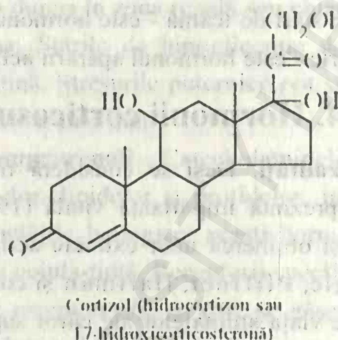
Clasificarea acestor hormoni se face având drept criteriu activitatea lor biologică, fără însă a-i putea delimita riguros, deoarece mulți dintre ei nu-și limitează activitatea

într-un singur sens. După acest criteriu apar trei grupe de corticosteroizi: glucocorticosteroizi, mineralcorticosteroizi şi corticoizi sexuali.

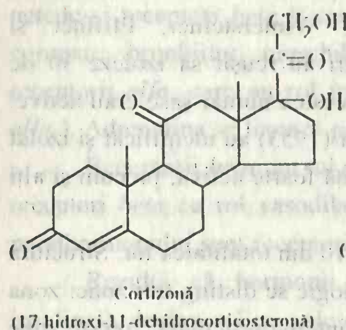
Principalul hormon glucocorticosteroid este cortizolul; din această categorie mai face parte cortizona, corticosterona şi 11-dehidrocorticosterona, cu următoarele structuri chimice:



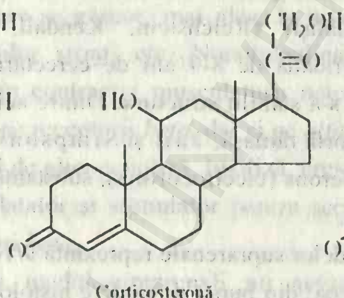
Pregnan



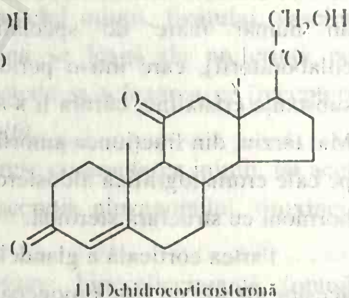
Cortizol (hidrocortizon sau 17-hidroxicorticosteronă)



Cortizonă (17-hidroxi-11-dehidrocorticosteronă)



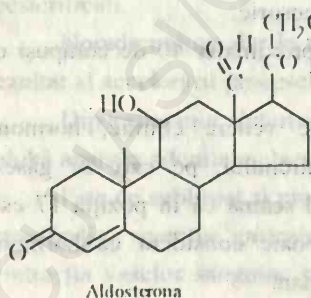
Corticosteronă



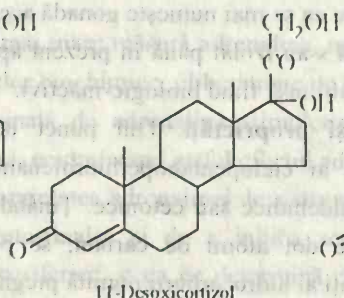
11-Dehidrocorticosteronă

Caracteristica comună pentru glucocorticosteroizi este prezenţa oxigenului în poziţia 11, ceea ce justifică şi denumirea lor de 11-cortico-oxisteroizi. Corticosterona este primul hormon corticosuprarenal izolat (1937) şi se poate aprecia că toţi ceilalţi glucocorticosteroizi sunt derivaţi ai acestuia.

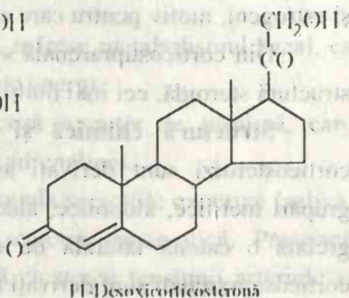
Hormonii mineralcorticosteroizi (mineralotropi) au structura chimică foarte apropiată de a glucocorticosteroizilor. Din această categorie fac parte aldosterona, 11-dezoxicorticosterona şi 11-dezoxicortizol (DOC), numit şi 11-dezoxicorticosterona:



Aldosterona



11-Desoxicortizol

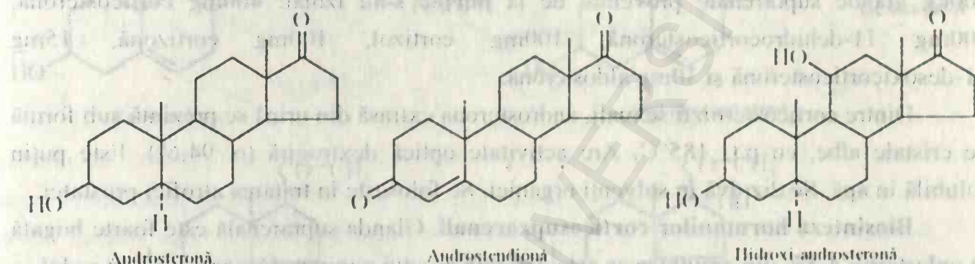


11-Desoxicorticosteronă

Se deduce cu uşurinţă că ultimii doi sunt derivaţi de corticosteronă, iar primul are o grupare aldehidică în locul grupării metilice din poziţia 18, ceea ce justifică şi

denumirea de aldosteronă. Prezența grupării aldehidice, apropiată spațial de gruparea alcoolică din poziția 11, creează condiția pentru o reacție de semiacetalizare intramoleculară, ceea ce explică existența aldosteronului în soluție ca două forme tuatomere: o formă aldehidică și una semiacetalică.

Dintre hormonii sexuali elaborați de zona reticulată a corticosuprarenalei fac parte: adrenosterona, androstendiona și hidroxiandrosterona. Acești hormoni posedă în componența lor moleculară numai 19 atomi de carbon (le lipsește catena laterală din poziția 17); ei sunt lipsiți de activitate corticosuprarenală, dar au mai ales proprietăți androgene, și mai puțin estrogene sau luteală. Deoarece toți acești trei compuși biologic-activi au o grupare cetonică în poziția 17, apare justificată denumirea lor de 17-cetocorticosteroizi, cu următoarele structuri chimice:



Androsteronă Androstendionă Hidroxi androsteronă

Se cunosc mai mulți compuși care fac parte din grupa 17-cetosteroizilor, biologic-activi, care se deosebesc prin structura lor chimică, prin proprietățile biologice și prin proveniență (glanda care îi secretă). Secreția lor depinde de vârstă, sex și starea de gestație pentru organismele feminine.

Glucocorticoizii au proprietatea de a interveni în metabolismul glucidelor, dar și a proteinelor. Cortizolul, cel mai important reprezentant, este o substanță solidă și se topește la 220°C sau 245°C; este optic activ, având activitate optică dextrogiră (α +167°). Este cunoscută și sub numele de hidrocortizonă sau prednizolonă. Este greu solubil în dioxan. Se folosește ca medicament antireumatismal.

Cortizona (compusul lui Kendall) se prezintă sub formă de cristale ce se topesc la 220...224°C, cu descompunere. Este optic activă, dextrogiră (α 209°). Este solubilă în metanol, etanol, acetonă, eter, benzen, cloroform; se dizolvă greu de apă. Are proprietăți antialergice.

Corticosterona se prezintă sub formă de cristale trigonale, care se topesc la 180...182°C. Prezintă activitate optică dextrogiră (α 233°). Se mai numește și compusul H al lui Reichstein și compusul B al lui Kendall. Ca medicament se folosește pentru tratarea bolii lui Addison.

11-Dehidrocorticosterona se prezintă sub formă de cristale, cu punctul de topire 178...180°C. Este optic activă (α +258°). Se dizolvă în benzen. Este compusul A al lui Kendall.

Mineralcorticoizii au rol important în metabolismul hidromineral, pentru care fapt au fost denumiți hormonii apei și sării.

Aldesterona se prezintă sub formă de cristale hidratate, cu punctul de topire la 108...112°C; în stare anhidră se topeşte la 164°C. Prezintă activitate optică dextrogiră (α +152°). Este de circa 30 ori mai activă decât 11-dezoxicorticosterona. Se foloseşte în insuficienţa renală, în boala lui Addison etc. Se mai numeşte şi electrocortină.

11-Dezoxicortizolul sau 17-hidroxi-11-dezoxicorticosterona este o substanţă cristalină, care se topeşte la 241°C şi prezintă activitate optică dextrogiră (α +116°). Se mai numeşte substanţa S a lui Reichstein.

11-Dezoxicorticosterona, dezoxicortona sau cortexona este o substanţă cristalină care se topeşte la 141...142°C şi are activitate optică dextrogiră (α +178°). Se dizolvă în alcool şi în acetonă. Este cunoscută şi sub numele de substanţa Q a lui Reichstein.

Toţi aceşti hormoni se găsesc în cantităţi foarte mici în ţesutul glandular. Din 500kg glande suprarenale provenite de la bovine s-au izolat: 400mg corticosteronă, 400mg 11-dehidrocorticosteronă, 100mg cortizol, 100mg cortizonă, 15mg 11-desoxicorticosteronă şi 30mg aldosteronă.

Dintre corticosteroizii sexuali, androsterona extrasă din urină se prezintă sub formă de cristale albe, cu p.t. 185°C. Are activitate optică dextrogiră (α 94,6°). Este puţin solubilă în apă. Se dizolvă în solvenţi organici. Se foloseşte în tratarea atrofiei prostatei.

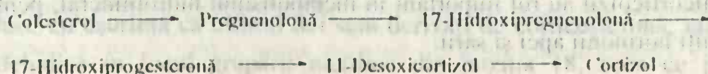
Biosinteza hormonilor corticosuprarenali. Glanda suprarenală este foarte bogată în colesterol; 4-5% din greutatea sa este datorată acestui compus. Deoarece colesterolul se transformă repede, prin administrarea de ACTH (hormon hipofizar) în corticoizi, s-a ajuns la concluzia logică conform căreia colesterolul este un precursor al acestor hormoni. Influenţa hipofizei asupra suprarenalelor a fosta stabilită încă din 1926 de Smith şi Forster. Cercetări întreprinse de Evans, Houssay, Collip şi alţii (1933) au demonstrat că extractele din hipofiza anterioară stimulează activitatea corticosuprarenalei.

Cercetările efectuate prin metoda atomilor marcaţi au pus în evidenţă în mod convingător faptul că hormonii corticosteroizi rezultă în organismul animal din colesterol, iar acesta se formează în ficat din molecule de acid acetic. Prin aceeaşi metodă însă, s-a putut deduce că glanda suprarenală are proprietatea de a sintetiza hormoni în ţesutul său cortical folosind molecule mici de acetat sub formă activă de acetilcoenzimă. În mod direct se sintetizează însă o cantitate mică de corticosteroizi, cea mai mare parte având ca precursor colesterolul. Colesterolul se sintetizează în ficat, de unde, pe cale sanguină, este transportat la glanda corticosuprarenală.

Procesul complex al biosintezei hormonilor corticoizi are loc în mitocondrii, în prezenţa unui complex de enzime specifice pentru fiecare transformare biochimică simplă.

Biosinteza glucocorticoizilor se desfăşoară în zona fasciculată a corticosuprarenalei şi în foarte mică măsură şi în zona reticulată.

Formarea biochimică a cortizolului, pleeând de la colesterol, se poate reda schematic prin următoarele reacţii simple:



Aceste reacţii se petrec în mitocondrii până la apariţia pregnenolonei care trece în reticulul endoplasmatic, deoarece enzimele caracteristice transformărilor ce urmează (hidroxilaze) nu se găsesc în mitocondrii. Pentru transformarea catenei laterale relativ lungi din poziţia 17 a colesterolului, se petrece mai întâi o oxidare parţială formându-se două grupări hidroxilice, rezultând hidroxicolesterol, iar printr-o scindare oxidativă se formează pregnenolonă. Mecanismul chimic se poate reprezenta în modul următor:

17 — Hidroxilază + O_2, NADPH → OH, OH — Colestero-desmolază →

HO — Colesterol — Deshidroxicolesterol

$CO-CH_3$ — 17-Hidroxilază → $CO-CH_3$, OH — Hidroxisteroiddehidrogenaza + izomerază →

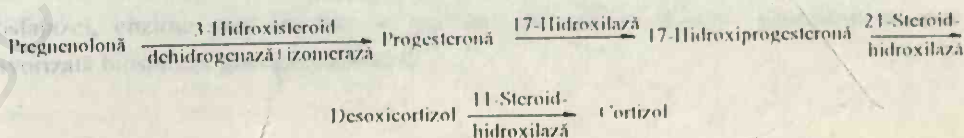
HO — Pregnenolonă — HO — 17-Hidroxipregnenolonă

$CO-CH_3$, OH — 21-Steroid-hidroxilază → $CO-CH_2OH$, OH — 11-Steroid-hidroxilază →

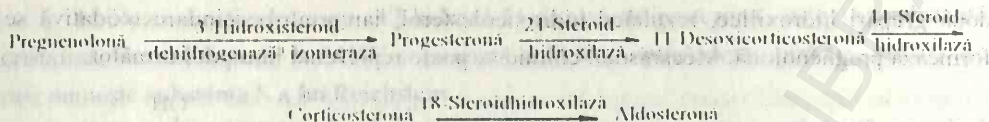
HO — 17-Hidroxiprogesteronă — HO — Desoxicorticozol

$CO-CH_2OH$, HO, OH, O — Cortizol

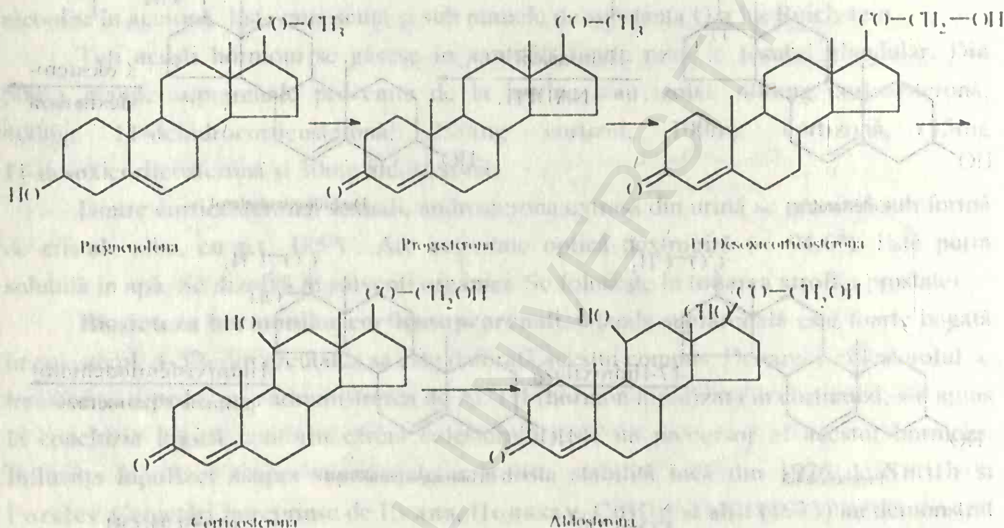
Se poate accepta şi schema următoare:



Biosinteza aldosteronei, cel mai important hormon mineralcorticoid, se desfăşoară numai în zona glomerulată. Plecându-se de la colesterol, se vor forma, ca în cazul biosintezei cortizolului, mai întâi pregnenolonă, iar aceasta va trece în progesteronă, conform următoarei scheme:

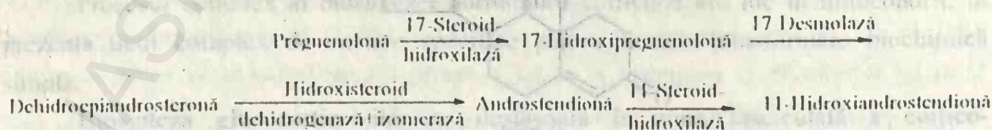


Mecanismul chimic se poate reprezenta în modul următor:

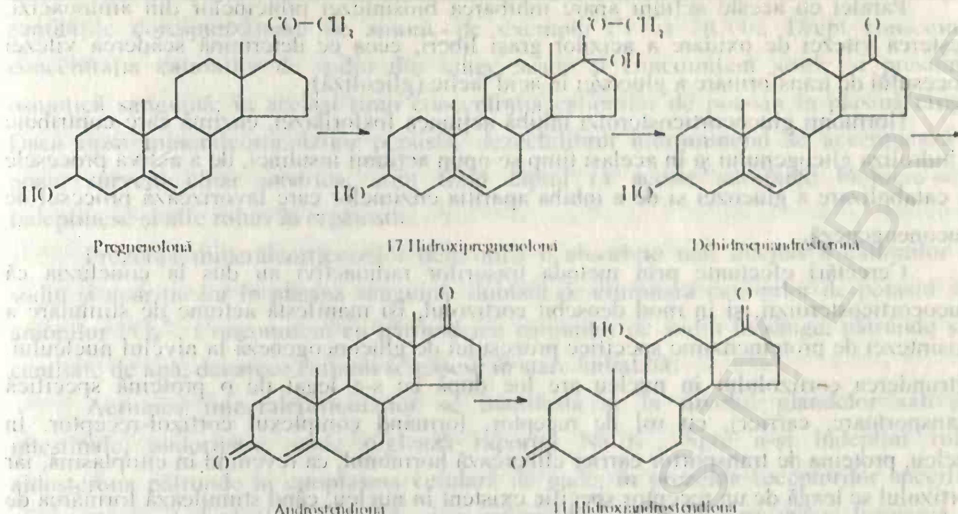


Se observă că după acest mecanism, pe lângă principalul mineralcorticoid, se formează şi 11-desoxicorticosteronă, hormon care face parte din aceeaşi grupă, având însă o activitate mineralcorticoidă mult inferioară aldosteronei. Corticosterona, un alt hormon care apare conform acestei scheme, face parte din categoria glucocorticoizilor, el având însă şi o slabă activitate mineralcorticoidă. Apare, de asemenea, şi progesterona, hormon sexual feminin; este posibil să se formeze şi alţi hormoni sexuali feminini.

Biosinteza corticoizilor sexuali are loc în zona reticulată, precursorul lor fiind, de asemenea, colesterolul; acesta trece în pregnenolonă, care este supusă următoarelor transformări enzimatice:



Pentru această schemă, mecanismul chimic este următorul:



După această schemă se formează dehidroepiandrosteronă, care are activitate hormonală androgenică; prin sulfatare (esterificare la gruparea hidroxilică din poziția 3), această activitate se amplifică. Prin hidrogenare enzimatică, din dehidroepiandrosteronă poate rezulta androsterona, alt hormon corticoid sexual. În afară de progesteronă, în partea corticală a glandei suprarenale se formează și alți hormoni sexuali feminini ca estrona și estradiolul, având ca precursor androstendiona.

Formarea corticosteroizilor este stimulată și controlată de ACTH care, fixându-se pe receptorii membranei corticosuprarenalei, acționează asupra sistemului AMC ciclic-adenilatciclază, activând o serie de enzime implicate în procesele biochimice, formându-se și proteine care favorizează ieșirea pregnenolonei din mitocondrii.

Rolul biologic al hormonilor corticosteroizi. Hormonii glucocorticosteroizi, așa cum rezultă și din denumirea lor, acționează asupra metabolismului glucidic și concomitent influențează și metabolismul protidic și lipidic. Acțiunea asupra metabolismului glucidelor se manifestă atât prin creșterea concentrației de glucoză în sânge, ca rezultat al stimulării proceselor de transformare a aminoacizilor în glucoză, cât și prin stimularea formării glicogenului hepatic (glicogenogeneză). Procesul biochimic de formare a glucozei din compușii neglucidici (gluconeogeneză) este coordonat de glucocorticosteroizi, urmărindu-se două aspecte: a) pregătirea substratului capabil de a fi transformat în glucoză; b) stimularea proceselor de formare a enzimelor specifice, care vor cataliza transformarea substratului în glucoză.

Primul aspect se realizează prin hidroliza unor proteine din țesuturile organismului și trecerea aminoacizilor rezultați în plasma sanguină, iar de aici în ficat, unde se vor transforma în glucoză. Cel de al doilea aspect se înfăptuiește prin stimularea biosintezei piruvatcarboxilazei, fosfoenolpiruvatcarboxilazei, fructozo-1,6-difisfatazei, glucozo-6-fosfatazei, enzime care intervin în procesul de gluconeogeneză. Concomitent, este favorizată biosinteza glicogensintetazei.

Paralel cu aceste acțiuni apare inhibarea biosintezei proteinelor din aminoacizi, creșterea vitezei de oxidare a acizilor grași liberi, ceea ce determină scăderea vitezei procesului de transformare a glucozei în acid lactic (glicoliză).

Hormonii glucocorticosteroizi inhibă acțiunea fosforilazei, enzimă care contribuie la hidroliza glicogenului și în același timp se opun acțiunii insulinei, de a activa procesele de catabolizare a glucozei și de a inhiba apariția enzimelor care favorizează procesul de gluconeogeneză.

Cercetări efectuate prin metoda trasorilor radioactivi au dus la concluzia că glucocorticosteroizii, și în mod deosebit cortizolul, își manifestă acțiune de stimulare a biosintezei de proteinenzime specifice procesului de gluconeogeneză la nivelul nucleului. Pătrunderea cortizolului în nucleu are loc după ce s-a legat de o proteină specifică (transportoare, carrier), cu rol de receptor, formând complexul cortizol-receptor. În nucleu, proteina de transportor carrier eliberează hormonul; ea revenind în citoplasmă, iar cortizolul se leagă de un receptor specific existent în nucleu, când stimulează formarea de ARN-mesager; acesta se implică în biosinteza proteinenzimelor specifice, necesare gluconeogenezei.

În metabolismul proteinelor din oase, favorizează catabolismul proteinelor în sensul degradării lor și eliberării de aminoacizi. Nu sunt afectate proteinele hepatice. Stimulează biosinteza enzimelor care au rol în metabolismul aminoacizilor, de exemplu alanintransaminaza, triptofanpirolaza, tirozin-transaminaza și altele.

Se poate sublinia faptul că, în ficat, cortizolul favorizează procesele anabolice (glicogenogeneză, gluconeogeneză, sinteze de proteine enzimatice), iar în celelalte țesuturi favorizează procese catabolice (degradarea macromoleculelor proteice, transformarea aminoacizilor).

Acțiunea glucocorticoizilor în metabolismul lipidic vizează două aspecte: unul catabolic și altul anabolic. Primul se manifestă prin hidroliza lipoproteidelor, stimularea lipolizei, creșterea vitezei de oxidare a acizilor grași în vederea eliberării de energie necesară organismului. Efectul anabolic se concretizează prin stimularea biosintezei de acizi grași și depuneri de grăsime în unele zone ale organismului. Efectul catabolic însă primează.

Hormonii glucocorticoizi au și alte acțiuni în organism; se cere menționată acțiunea cortizolului în apariția glicozuriei prin scăderea pragului renal pentru glucoză. Excesul de cortizol determină scăderea masei musculare prin catabolizare și inhibarea formării colagenului și țesutului osos. Reduce calcemia prin sporirea eliminării calciului prin urină. Influențează secreția catecholaminelor care intervin în aparatul cardiovascular. Inhibă procesele inflamatorii de origine toxică, infecțioasă sau traumatică ajutând vindecarea. Hormonii glucocorticosteroizi influențează sistemul nervos, intervenind în excitarea creierului și implicit a sistemului psihico-emoțional.

Hormonii mineralcorticoizi intervin în reglarea circuitului hidromineral; influența cea mai puternică o are aldosterona, îndeplinind aproximativ 95% din acțiunile biologice ale acestor hormoni. În lipsa lor, rinichii nu au capacitatea de a reține ionii de sodiu și

cantitățile corespunzătoare de anioni, de exemplu Cl^- și HCO_3^-. Drept consecință, concentrația cationilor de sodiu din sânge scade și concomitent scade și presiunea osmotică sanguină; în același timp concentrația cationilor de potasiu în plasmă crește. Dacă lipsa mineralcorticoizilor persistă, dezechilibrul hidromineral se accentuează și poate surveni chiar moartea, știut fiind faptul că aceste substanțe biologic-activ îndeplinesc și alte roluri în organism.

Prezența mineralcorticoizilor determină o absorbție mai intensă a cationilor de sodiu și apariția lor în plasma sanguină, dublată de eliminara cationilor de potasiu și a anionilor PO_4^{3-}. Concomitent cu pătrunderea cationilor de sodiu în sânge, pătrunde și o cantitate de apă, deoarece cationii se găsesc în stare hidratată.

Acțiunea mineralcorticoizilor se manifestă și la nivelul glandelor salivare, intestinale, sudoripare, unde reglează raportul Na^+/K^+. Spre a-și îndeplini rolul, aldosterona pătrunde în citoplasma celulară de unde, în prezența receptorilor specifici, ajunge la nucleu. Aici stimulează, prin intermediul ARN-ului mesager, formarea de proteinenzime specifice, care vor cataliza normalizarea echilibrului hidromineral. De aici, se poate interpreta că mineralcorticoizii intervin și în metabolismul proteic. Este de menționat că în mică măsură intervine în circuitul hidromineral și cortizolul. Se cunosc și mulți compuși organici sintetici, cu structură steroidă, care au activitate mineralcorticoidă.

Hormonii sexuali corticosuprarenali au rol biologic mai important în stadiul intrauterin al vieții, când intervin in dezvoltarea organelor sexuale masculine, rol ce este îndeplinit și după naștere. Mai târziu, în adolescență, unii dintre acești hormoni se transformă în hormonul sexual masculin numit testosteron, care intervine în procesul virilității. La femei, hormonii androgeni contribuie la apariția și menținerea pilozității.

Hormonii corticosteroizi îndeplinesc și alte roluri în organism; astfel, ei intervin și întrețin funcționarea normală a aparatului cardiovascular, a sistemului muscular, a sistemului nervos, a componenței sanguine etc.

Se cunoaște un număr impresionant de compuși chimici organici sintetici, cu structură steroidă, care pot fi considerați analogi structurali ai hormonilor corticosteroizi și care prezintă activitate biologică, uneori mai pronunțată decât a produșilor naturali (este cazul prednisonei, prednisolonei, fluorocortizonului etc.).

Perturbări ale funcției glandei corticosuprarenale. Funcția corticosuprarenalei poate fi perturbată datorită unor leziuni structurale ale cortexului sau datorită dereglării mecanismelor care coordonează secreția de hormoni corticosuprarenali.

Hipofuncția corticosuprarenală datorată lezării țesutului cortical al ambelor capsule suprarenale determină apariția simptomelor bolii lui Addison. Boala se manifestă prin scăderea concentrației ionilor de Na^+ și Cl^- din plasma sanguină și creșterea concentrației în cationi de potasiu. Apare și hipoglicemie, ca rezultat al scăderii depozitului de glicogen și încetinirii procesului de gluconeogeneză. Boala poate fi însoțită și de hipolipidemie și hipocolesterolemie. Ca manifestări clinice apar: pigmentarea tegumentelor, tulburări cardiovasculare, tulburări digestive (grețuri, diaree, vomă etc.), unele tulburări psihice.

În general, hipofuncția corticosuprarenalei determină hipotensiune, astenie, hipoglicemie, tendință spre deshidratare, perturbarea sistemului cardiac și a circulației sanguine, tulburări ale echilibrului hidromineral, tulburări gastrointestinale etc.

Hiperfuncția corticosuprarenală se poate concretiza prin creșterea secreției de cortizol, când apar simptomele clinice caracteristice bolii Cushing. Dintre acestea se cer menționate: depuneri adipoase în unele regiuni ale corpului (față, gât, trunchi), apariția unor striuri cutanate, colorate, în regiunea abdominală; apariția pilozității la femei, hipertensiune arterială, osteoporoză, tulburări ale glandelor sexuale etc. Totodată se instalează o hiperglicemie ce nu se reduce în prezența insulinei, ceea ce poate atrage diabetul pancreatic prin degenerarea insulinei lui Langerhans, crește concentrația de grăsimi și colesterol în plasma sanguină, apare hipernatremie și hiponatriurie, scade concentrația în cationi de potasiu în plasma sanguină, crește concentrația în 17-hidroxicorticosteroizi în sânge și în urină etc.

În cazul unei hipersecreții de aldosteron apare boala Conn, care se manifestă prin poliurie și polidipsie, crește concentrația cationilor de sodiu și eliminarea potasiului prin urină. Clinic se observă o stare de oboseală musculară, hipertensiune arterială; se pot instala și paralizii periodice. Sindromul Conn poate fi provocat și de alte cauze.

Hipersecreția de hormoni sexuali poate fi de origine congenitală și ea apare la copii, indiferent de sex. În acest caz apare instalarea prematură a caracterelor sexuale secundare cum sunt: apariția prematură a pilozității, dezvoltarea timpurie a sânilor, apariția în timpul copilăriei a ciclului oestral, dezvoltarea testiculelor și a scheletului muscular la băieți, virilizarea precoce. Se instalează astfel sindromul suprarenogenital. Pot să apară în acest caz și alte aspecte, mult mai grave.

La adulți hipersecreția de corticoizi sexuali duce la apariția caracterelor sexuale secundare, care la femei se manifestă prin îngroșarea vocii, atrofierea glandelor mamare, tulburări menstruale, apariția părului pe față etc.

3.2.5. Hormoni pancreatici

Generalități. Pancreasul este o glandă cu dimensiuni relativ mari, care îndeplinește atât funcția exocrină, cât și funcție endocrină. Funcția exocrină este concretizată prin secreția sucului pancreatic care pătrunde în duoden, unde participă la procesele biochimice ale digestiei intestinale. Funcția endocrină constă în elaborarea și secreția a doi hormoni principali, ambii cu structură polipeptidică: insulina și glucagonul.

Funcția endocrină a pancreasului este îndeplinită de unele porțiuni foarte mici, numite insulele lui Langerhans. Deși acestea sunt în număr de circa 2 000 000, ele totalizează doar 0,65-0,70 g, ceea ce reprezintă aproximativ 1,5% din greutatea totală a glandei, care este de 80-90 g, uneori și mai mult.

Deși diabetul zaharat era cunoscut de mai multă vreme, corelația dintre această boală și pancreas a fost pusă în evidență abia în anul 1889 de către Mering și Minkovschi. Prin transplantarea subcutanată a pancreasului, Hedon a demonstrat (1894) că este inhibată apariția diabetului, iar Laguesse (1895) a pus în evidență rolul

endocrin al insulelor lui Langerhans, a căror secreţie a fost numită (1909) de către Meyer „insulină", denumire sugerând provenienţa.

Cu studiul pancreasului s-a ocupat şi fiziologul român Nicolae Paulescu (1869-1931), care a obţinut pentru prima dată (1921) un extract pancreatic cu acţiune hipoglicemiantă, pe care l-a numit „pancreanină". Puţin mai târziu (1922), insulina a fost izolată de către Banting şi Best, cercetători canadieni, care au prelucrat pancreasul bovinelor. Abel şi colaboratorii au reuşit să obţină insulină sub formă cristalină (1926).

Insulele lui Langerhans sunt alcătuite din celule diferite:

celule α, mai voluminoase, în proporţie de 20-25%, care secretă glucagonul;

celule β, mai mici, în proporţie de 65%, care secretă insulina;

celule γ, în proporţie de circa 5%, care secretă vagotonina şi urme de gastrină;

celelalte tipuri de celule, în proporţie de 5%, sunt celule δ sau încă alte două tipuri de celule; dintre acestea, celulele δ par să aibă o modestă funcţie endocrină, elaborând un polipeptid numit somatostatina, care are o viaţă scurtă; este eliberat şi de hipotalamus.

Structură chimică şi proprietăţi ale insulinei. Prin cercetări foarte laborioase întreprinse de E. Sanger, Tuppy şi Thompson, s-a putut stabili structura chimică a insuliei, ca fiind un polipeptid alcătuit din 51 resturi de aminoacizi. Molecula insulinei conţine două catene polipeptidice: A şi B. Prima este alcătuită din 21 resturi de aminoacizi, primul fiind glicocolul cu grupa $-NH_2$ liberă şi deci gruparea -COOH angajată într-o legătură peptidică -CO-NH-, iar ultimul aminoacid din catena A este asparagina, având gruparea -COOH liberă. A doua catenă este constituită din 30 resturi de aminoacizi, primul fiind fenilalania, cu grupa $-NH_2$ liberă, iar ultimul este alanina cu grupa -COOH liberă.

Cele două catene polipeptidice sunt unite prin punţi disulfurice -S-S-; există două astfel de punţi, foarte sensibile la oxidare când, în prezenţă de acid performic, se transformă în grupe sulfonice ($-SO_3H$). S-au identificat 17 aminoacizi diferiţi în structura insulinei, unii dintre ei repetându-se, de exemplu: glutamina, asparagina, leucina, cisteina, glicina, tirozina, fenilalanina, alania.

S-a precizat că legătura disulfurică între cele două catene se stabileşte între cisteina 7 din catea A şi cisteina 7 din catena B, iar cea de a doua punte se stabileşte între cisteina 20 din catena A şi cisteina 19 din catena B. Mai există şi o a treia punte disulfurică, care nu este intercatenară, ci intracatenară, stabilită între cisteina 6 şi cisteina 11, aparţinând catenei A; de aceste două molecule de cisteină mai sunt legaţi încă patru aminoacizi, formând un ciclu, molecula de cisteină 7 din acest ciclu contribuind la reticularea celor două catene A şi B. S-a stabilit secvenţa aminoacizilor în molecula insulinei, care în cazul când aceasta provine din pancreasul bovinelor are greutatea moleculară 5 734 şi poate fi reprezetată în felul următor:

```
                                                                                        COOH
                                                                                          |
(A) Gly-Ileu-Val-Glu-Gln        Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asp
     |  1    2   3   4   5       12   13  14  15  16  17  18  19  |20  21
    NH2              6Cys-S-S-Cys11                                 |
                    /            \                                  S
              7Cys                Val                               |
               |  \              /10                                S
               |   Ala  ---  Ser                                    |
               |    8         9                 Tyr---Leu---Val---Cys-Gly
               S                                 | 16    17    18   19  | 20
               |                                Leu 15                 Glu 21
(B)            S                                 |                      |
               |                                Ala 14                 Arg 22
Asn-Gln-His-Leu-Cys - Gly - Ser - His - Leu-Val---Glu                   |
 3   4   5   6   7     8     9     10    11  12    13                  Gly 23
2 Val                                                                   |
 |                         HOOC-Ala-Lys-Pro-Thr-Tyr-Phe-Phe
1 Phe                           30  29  28  27  26  25  24
 |
NH2
```

Deși pe cale analitică rezultă existența a 51 resturi de amioacizi în structura chimică a insulinei, așa cum rezultă și din formula polipeptidică de mai sus, se poate interpreta totuși că există numai 48, deoarece se poate admite că cele trei punți disulfurice sunt cistinice, ele aparținând unui singur aminoacid (cisteina), care este singurul ce poate lega covalent, reticulând, cele două catene polipeptidice.

Se poate vorbi și de o conformație spațială a moleculei de isulină; aceasta constă într-o structură de tip „α-helix" răsucită spre dreapta, pentru catena B și răsucită spre stânga pentru catena A.

Insulina obținută din pancreasul altor specii de animale diferă de cea de bovine prin natura și succesiunea a trei aminoacizi din ciclul format din șase aminoacizi, dintre care trei sunt identici. Astfel, la insulina de porcine apare secvența *Cys-Thr-Ser-Ileu*, la insulina de ovine apare *Cys-Ala-Gly-Val*, iar la cea de cabaline *Cys-Thr-Gly-Ileu*. La insulina umană ciclul mic este format identic ca în cazul insulinei de porcine, de care se diferențiază prin ultimul aminoacid din catena B, care este treonina în loc de alanină.

Insulina a fost obținută și sintetic de către Katsoyannis (1963) și H. Zahn în R. F. G. (1963). Ea a fost sintetizată si de către un mare număr de colectiv de cercetători chinezi (1965) condu[illegible]-Ting. Insulina sintetică este mai puțin activă decât cea naturală.

Insulina se prezintă sub formă de pulbere albă, cristalină, care se topește la 233°C. Este solubilă în mediu slab acid, la pH 5-6, în soluții alcaline diluate, în alcool de 90%, în glicerină, în fenol. Este insolubilă în alcool absolut, cloroform, eter, acetonă, benzen. Fermenții proteolitici o distrug, motiv pentru care insulina ca medicament nu poate fi introdusă în organism pe cale orală. În mediu alcalin, are proprietatea de a forma asociații moleculare de diferite mărimi, având masa moleculară de la 36 000 la 48 000, asociații determinate de cationii metalici. În organism ea se găsește complexată cu cationi de zinc.

O unitate internațională de insulină corespunde la 0,045 mg preparat standard cristalin. Insulina în stare pură are o activitate de 20 U.I./mg.

Insulina se folosește pe scară largă ca medicament pentru tratarea diabetului. În acest scop, se obține prin extracție din pancreasul animalelor de abator. Introdusă în organism pe cale parenterală, își manifestă acțiunea un timp scurt, deoarece este supusă hidrolizei de către enzimele proteolitice. Pentru a-i prelungi acțiunea, se obțin combinații cu diferite proteine care se resorb mai lent, fiind numite insuline retard.

Biosinteza insulinei. Fiind un compus protidic, biosinteza insulinei are loc la nivelul ribozomilor din reticulul endoplasmatic din costituția celulelor β ale insulelor Langerhans. Se admite că, mai întâi, are loc sinteza unui compus polipeptidic, cu greutate moleculară mai mare decât a insulinei, numit proinsulină. La rândul ei proinsulina ar rezulta prin hidroliză enzimatică din alt compus, cu greutate moleculară și mai mare, numit preproinsulină, după schema:



Proinsulina care apare la nivelul ribozomilor este transformată în insulină, în cursul trecerii ei spre complexul Golgi.

S-a pus în evidență de către Chance, care a izolat proinsulina din pancreasul porcinelor, că aceasta este alcătuită din 84 resturi de aminoacizi. În fig. 3.2. se reprezintă schematic structura proinsulinei de porc.

Fig. 3.2. Structura proinsulinei de porc.

Așa cum se poate observa și din fig. 3.2, proinsulina se diferențiază de insulină printr-un peptid format din 33 resturi de aminoacizi. Este de remarcat că acest polipeptid

care se detașează nu se găsește la unul din capetele catenei polipeptidice a proinsulinei și nici nu conține aminoacizi cu sulf (cisteină); el face legătura între cele două catene A și B ale insulinei și este numit peptid de legătură. Este eliminat prin acțiunea hidrolitică a unei enzime protolitice de tipul tripsinei, care scindează legătura peptidică, din poziția 32-33 și 62-63, iar sub influența unei carboxipeptidaze se pun în libertate trei moleculede arginină (pozițiile 31,32 și 63) și o moleculă de lizină (poziția 62). Eliberarea insulinei de proinsulină se poate schematiza în modul indicat prin fig.3.3.

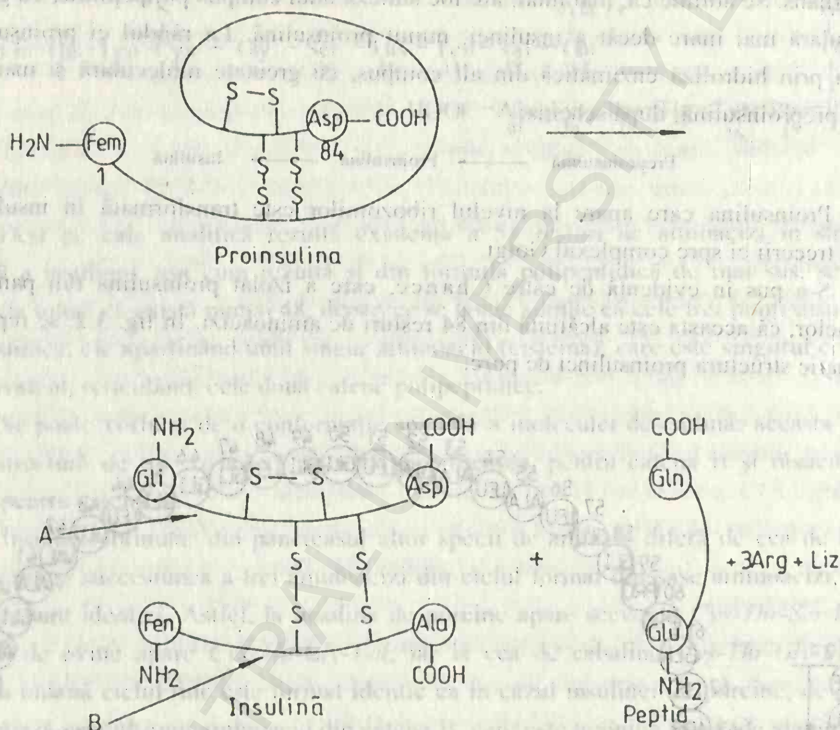


Fig. 3.3. Schema de eliberare a insulinei din proinsulină.

Reglarea secreției insulinei. În celulele din insulele lui Langerhans nu se găsesc depozite de proinsulină, iar în serul sanguin concentrația în acest polipeptid este foarte mică, ceea ce duce la concluzia că insulina se depozitează singură, după eliberare în celulele formatoare.

Secreția insuliei este influețată de glicemie. În mod normal, concentrația glucozei în sânge este de 70 mg%; dacă aceasta crește ajungând la o stare de hiperglicemie, respectiv de 100-110 mg%, se instalează un proces de stimulare a secreției de insulină, de 8-10 ori mai mare decât în glicemia normală. Pe cale experimentală, s-a demonstrat că mărind glicemia prin injectare de glucoză în sânge, insulina se secretă într-un interval de câteva minute, chiar mai puțin de 5. La hiperglicemii mai ridicate de 400-600 mg%, secreția insuliei se poate multiplica și de 30 de ori, dar imediat ce scade concetrația

glucozei din sânge, secreția insulinei revine la normal. Glucoza stimulează elaborarea insulinei și trecerea ei în sânge numai după ce a fost fosforilată.

Procesul trecerii insulinei în sânge decurge după un mecanism biologic mai complicat. Concomitent cu solicitarea insulinei de glucoză, sunt activate și enzimele implicate în biosinteza ei.

Pe lângă glucoză, secreția insulinei este influențată și de prezența altor monoglucide în sânge, de exemplu: riboză, fructoză, galactoză, manoză. De asemenea, unii acizi grași, aminoacizi, compuși cetonici, stimulează secreția insulinei. Hormonii gastrointestinali ca secretina, gastrina, apoi glucagonul pancreatic influențează secreția de insulină. Se cunosc mulți hormoni ca: prolactina, tiroxina, progesterona, testosterona, cât și insulina însăși, care influențează secreția acestui compus biologic-activ. În această direcție un rol important îl are și sistemul nervos.

Secreția insulinei este un proces ce consumă energie; acesta provine din procesele catabolice ale monoglucidelor sanguine.

În sânge, insulina circulă sub formă legată de o proteină, care face parte din seria α- sau β- globulinelor, dar există și liberă.

Rolul biologic al insulinei. Rolul cel mai important al insulinei constă în intervenția ei asupra metabolismului glucidelor la nivelul celular; ea intervine însă și asupra metabolismului lipidelor și protidelor.

Insulina are acțiune hipoglicemiantă. Această acțiune se realizează prin favorizarea transformării glucozei în glicogen, la nivelul ficatului și în oricare măsură și în mușchi (glicogenogeneză). Acțiunea hipoglicemiantă se mai produce și prin stimularea pătrunderii glucozei prin membrana celulară în citoplasmă, unde este catabolizată pe cale oxidativă, rezultând energie. Pe această cale se consumă glucidele pătrunse în organism o dată cu alimentele, care au rolul de a menține glicemia în limite normale.

Pentru a-și îndeplini funcția hipoglicemiantă, de stimulare a folosirii glucozei de către țesuturi, insulina influențează transportul monoglucidelor prin membrane și intervine asupra sistemelor enzimatice care catalizează glicoliza și glicogenogeneza. În prima fază, insulina se fixează pe un receptor proteic existent la nivelul membranei celulare care, activat de către acest hormon, modifică permeabilitatea membranei, favorizând ieșirea cationilor de Na^+ și pătrunderea celor de K^+. Membrana celulară astfel repolarizată favorizează transferul spre citoplasmă al glucozei și al aminoacizilor.

Din complexul insulină-receptor, insulina influențează pe cale enzimatică glicoliza și degradarea glucozei. (Izolarea și purificarea receptorului membranar insulinic aparțin lui P.Cuatrecasas, M.O.Czech și S. Jacobs, constatându-se că aceasta este o glicoproteidă cu masa moleculară de circa 350 000, alcătuită din două subunități α și două β, deci $\alpha_2 \beta_2$, legate prin punți disulfurice. S-a pus în evidență faptul că insulina se leagă la nivelul subunității α, unde există un centru activ al receptorului cu hormonul. Se deduce că un receptor ar putea lega două molecule de insulină).

Glucoza pătrunsă în celulele hepatice, sub influența fosforilazelor specifice activate de insulină, este transformată în glucoză-6-fosfat; sub influența glucogensintetazei activată, de asemenea, de insulină, esterul glucoză-6-fosforic este

transformat în glicogen. Rezultă în mod clar rolul insulinei în stimularea procesului de glicogenogenază. Prin inhibarea glicogenfosforilazei, insulina determină diminuarea procesului de glicogenoliză.

Dintre enzimele ce catalizează glicoliza şi sunt activate de insulină fac parte: hexokinaza, fosfofructokinaza, fosfoenolpiruvatkinaza. De asemenea, isulina activează şi piruvatdehidrogenaza, încât este favorizată formarea de acetil-CoA.

Insulina frânează catabolismul lipidelor şi contribuie la sinteza acizilor graşi. În acest scop, acetil-CoA poate fi orientată de către insulină spre a fi încorporată în molecula altor acizi carboxilici, rezultând acizi cetonici cu moleculă mai mare care sub influenţa $NADPH_2$ sunt reduşi la acizi graşi. Este deci posibil ca din glucoză să se formeze acizi graşi.

În acelaşi timp, insulina favorizează sinteza gliceridelor şi fosfatidelor, opunându-se proceselor de hidroliză a grăsimilor, inhibând acţiunea gliceridlipazei. Acest aspect este confirmat de constatarea că, prin tratare cu insulină, pacientul se îngraşă.

Insulina joacă un rol important şi în metabolismul proteinelor. Într-adevăr, la diabetici procesul de proteoliză este accentuat, iar pe de altă parte s-a pus în evidenţă că prezenţa insulinei favorizează sinteza proteinelor. Aceasta rezultă şi din faptul că insulina uşurează pătrunderea aminoacizilor în celule, inhibă gluconeogeneza, activează capacitatea ribozomilor de a forma polizomi, centre de biosinteză a proteinelor. Insulina stimulează şi biosinteza ARN-ului.

Starea de hipoglicemie determinată de insulină duce la declanşarea unor mecanisme hiperglicemiante, de exemplu secreţia glucagonului, adrenalinei, ACTH, glucocorticoizilor, la creşterea poftei de mâncare.

Insulina are utilizări terapeutice, efectele ei fiind trecătoare; tratamentul în clinică se face timp îndelungat. Introdusă în organism în cantitate mai mare, scade mult glicemia, încât organismul ajunge în stare de comă, când are loc un „şoc insulinic" reglând unele funcţii interne, mai ales nervoase.

Perturbări ale secreţiei de insulină. Funcţia endocrină a procesului poate fi perturbată, în sensul unei secreţii crescute de insulină (hiperfuncţie) sau a unei secreţii insuficiente (hipofuncţie).

Ca rezultat al hiperfuncţiei pancreasului endocrin apare hiperinsulinismul, ceea ce determină apariţia hipoglicemiei. (Hipoglicemia are multiple cauze.) Secreţia excesivă de insulină este generată fie de creşterea şi înmulţirea insulelor lui Langerhans, fie datorită unor cauze patologice, cum sunt apariţia unor tumori maligne sau benigne.

Hipofuncţia pancreasului atrage instalarea diabetului zaharat, maladie caracterizată prin incapacitatea organismului de a metaboliza glucoză, ceea ce duce la hiperglicemie şi glicozurie. Concomitent predomină procesele de glicogenoliză şi de gluconeogeneză. Insuficienţa insulinică atrage şi perturbarea anabolismului lipidic; este inhibată biosinteza de acizi graşi şi a gliceridelor (lipogeneză scăzută), iar procesul de lipoliză este favorizat. Deoarece în lipsa insulinei acetil-coenzima-A nu este folosită, ea determină apariţia corpilor cetonici, cum sunt acetona, acidul acetilacetic, acidul β-hidroxibutiric. Aceştia

pot determina scăderea *p*H-ului, încât apare aşa-numita stare de acidoză, care trebuie neutralizată. Pentru neutralizare se consumă substanţele cu caracter bazic din organism, inclusiv ionii de amoniu şi în consecinţă apar alte tulburări. Deoarece în diabetul zaharat procesul de gluconeogeneză este accelerat, aminoacizii, inclusiv materiile grase fiind transformate în glucoză, apar perturbări însemnate şi în sinteza de proteine (generată şi de lipsa insulinei), iar organismul slăbeşte. Diabetul zaharat se tratează frecvent prin administrarea de insulină injectabilă, care se găseşte sub diferite forme; se folosesc şi medicamente de sinteză.

Rolul insulinei în zootehnie. Leziuni ale pancreasului animalelor, respectiv ale celulelor din insulele Langerhaus, determină apariţia diabetului, care însă în acest sector se iveşte mai rar. S-a pus în evidenţă diabetul zaharat la bovine, cabaline şi la câini. Şi în cazul apariţiei acestei maladii la animale, se observă câteva simptome caracteristice: slăbire, oboseală ce se instalează repede la eforturi mici, sete frecventă, poliurie. În cazul unei maladii prelungite apar şi alte manifestări chimice: căderea părului, pe unele regiuni ale corpului apar furunculi, respiraţia devine mai prelungită şi adâncă, pulsul slăbeşte, apar corpi cetonici şi glucoză în urină, iar viaţa animalului este în pericol. Diagnosticul este mai clar când se observă că deşi animalul are poftă de mâncare şi are dietă corespunzătoare, totuşi, slăbeşte, iar urina conţine un procent ridicat de albumine, corpi cetonici şi glucoză.

În cazul diabetului zaharat la animale, administrarea de insulină injectabilă devine obligatorie; în acelaşi timp se indică o dietă cu un conţinut redus de glucide. Deoarece efectul insulinei injectate este pentru o durată limitată, de 6-8 ore, este necesară administrarea periodică, adică de 3-4 ori pe zi, pentru interval de timp mai lung. Cantitatea de insulină necesară variază în limite foarte largi şi depinde de mai mulţi factori: specia zoologică, mărimea animalului, faza de evoluţie a bolii etc. Pentru animalele mari se apreciază un necesar zilnic între 80 şi 200 U.I. de insulină.

Administrarea insulinei animalelor cere precauţie; introducerea unei cantităţi prea mari de insulină printr-o singură injecţie poate determina apariţia unei hipoglicemii puternice, însoţite de o stare de „şoc", caracterizată prin convulsii, tulburări de mers, sau chiar pierderea cunoştinţei. Această stare reclamă administrarea de glucoză injectabilă.

Prin cercetări experimentale, s-a ajuns la concluzia că insulina prezintă importanţă în zootehnie în vindecarea rănilor, favorizând formarea ţesutului fibros care precede şi cicatrizarea şi formarea epiteliilor distruse.

Glucagonul. Experimental s-a constatat că prin introducerea unor extracte pancreatice în organism apare mai întâi o hiperglicemie şi apoi hipoglicemie (Murlin 1923), trăgându-se concluzia că pe lângă insulină trebuie să existe şi un factor hiperglicemiant.

Cercetările au stabilit că acest factor hiperglicemiant este secretat de celulele α ale insulelor lui Langerhans. Separarea glucagonului de insulină aparţine lui Sutherland şi Cosi, iar obţinerea lui în stare cristalizată se datorează lui Staub, Sinn şi Behrens (1955). Denumirea de glucagon derivă din limba greacă şi înseamnă mobilizator al glucozei.

Structură chimică și proprietăți. Din punct de vedere chimic, glucagonul este un polipeptid (Staub, 1950) format din 29 resturi de aminoacizi. Structura sa chimică a fost stabilită de Bromer în 1956. Secvența aminoacizilor din componența moleculei glucagonului a fost confirmată pe cale de sinteză de către Wunsch. După Behrens și Bromer, glucagonul are molecula polipeptidică, monocatenară, cu următoarea înlănțuire a aminoacizilor:

H_2N-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Glu-Val-Phe-Asp-Gln-Ala-Arg-Arg-Ser-Asp-Leu-Tyr
24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13

Trp-Leu-Met-Asn-Thr-COOH
25 26 27 28 29

Greutatea moleculară a polipeptidului este de 3 485. Se observă din structura chimică anterioară că aceasta este diferită mult de a insulinei. Lipsesc legătura disulfurică precum și unii aminoacizi ca prolina și izoleucina, prezenți în insulină, dar sunt prezenți triptofanul și metionina.

Catena glucagonului începe cu histidina, având gruparea -NH_2 liberă și se termină cu treonina care are gruparea carboxilică liberă.

Glucagonul este puțin solubil în apă, dar se dizolvă în mediul acid, cu $pH < 4$ și în mediul alcalin cu $pH > 9{,}5$. Este stabil atât în mediul acid, cât și în mediul alcalin. În prezența tripsinei sau a altor enzime proteolitice este scindat hidrolitic; de asemenea, enzima specifică numită glucagonază, care se găsește în ficat, îl hidrolizează.

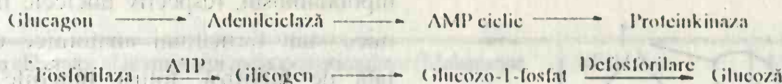
Glicemia reglează secreția glucagonului; în condiții de hipoglicemie, secreția este stimulată, iar în hiperglicemie este diminuată. Catecholaminele stimulează secreția glucagonului.

Rolul biologic al glucagonului. În organism, glucagonul are o acțiune opusă insulinei, fiind un compus biologic-activ hiperglicemiant. Acțiunea lui se petrece la nivelul ficatului și constă în activarea procesului de glicogenoliză de unde rezultă efectul său hiperglicemiant.

La nivelul ficatului, glucagonul se fixează de un receptor specific, existent pe membrana celulară și complexul receptor-hormon format activează enzimele implicate în procesul glicogenolitic și, în același timp, este inhibată acțiunea enzimelor anabolizante, ca glicogensintetaza și piruvatdehidrogenaza. Prin activitatea enzimelor catabolizante ca glicogenfosforilaza, se inițiază procesul de degradare a glicogenului hepatic, rezultând glucoză care pătrunde în sânge și crește glicemia. Acțiunea glicogenolitică a glucagonului are loc, în afară de ficat, și la nivelul mușchiului cardiac; ea nu are loc în mușchi și nici la nivelul altor organe.

Glucagonul își manifestă acțiunea glicemiantă și prin stimularea procesului de gluconeogeneză, antrenând atât aminoacizii, cât și acizii grași la acest proces.

Acțiunea glicogenolotică a glucagonului se poate schematiza în modul următor:



În intervenția sa asupra metabolismului glucidic, glucagonul concură cu alți hormoni.

Glucagonul inhibă sinteza lipidelor în ficat și exercită un efect lipolitic, activând lipazele din țesuturi.

Glucagonul este folosit sub formă de clorhidrat în tratarea hipoglicemiilor insulinice, ca injecții.

3.2.6. Hormonii glandei hipofize

Generalități. Hipofiza, numită și glanda pituitară, are o formă ovoidală și este plasată la baza creierului pe șaua turcească, deasupra ei găsindu-se hipotalamusul, care îi coordonează funcția endocrină. La rândul ei, activitatea hipotalamusului este dirijată pe cale neurologică.

Deși hipofiza a fost cunoscută de foarte multă vreme, existența ei fiind semnalată de Galenus, totuși importanța ca glandă endocrină a fost pus în evidență la sfârșitul secolului al XIX-lea prin experiențele lui B. Séquard (1890). Oliver și Schäffer sunt primii care au pus în evidență (1895) existența în glanda hipofiză a unui principiu biologic-activ. Cercetările asupra funcției acestei glande și a substanțelor biologic-active elaborate au continuat practic toată durata secolului al XX-lea, având drept rezultat identificarea structurii chimice a acestora și a rolului lor în organism.

Hipofiza este o glandă mică cu greutate cuprinsă între 0,6 - 1 g; acceptând că forma ei ar putea fi și sferoidă, diametrul sferei ar fi în jurul valorii de 1 cm.

Glanda este alcătuită din trei lobi: lobul anterior sau adenohipofiza are structură glandulară și reprezintă aproximativ 70% din glanda întreagă; lobul intermediar este mai puțin dezvoltat și pentru unele specii este incorporat în hipofiza anterioară; lobul posterior, numit și neurohipofiză sau hipofiza posterioară, este alcătuit în majoritate din țesut nervos și reprezintă aproximativ 30% din greutatea glandei.

Este de remarcat faptul că în timp ce la unele specii de vertebrate lobul intermediar sau hipofiza intermediară reprezintă o formațiune anatomică distinctă, la om aceasta este deosebit de redusă, fiind sub forma unei lame foarte subțiri.

Glanda hipofizară este legată fiziologic de hipotalamus, atât pe cale umorală, cât și nervoasă, încât funcția hormonală a celor trei lobi se află sub controlul acesteia din urmă. În fig. 3.4 se prezintă o schemă generală a glandei hipofize și legătura ei cu hipotalamusul.

Pentru fiecare hormon hipofizar există un factor de eliberare hipotalamic, dar există și produse de secreție ale hipotalamusului cu rol inhibitor. Hormonii hipofizei, la rândul lor, au rol esențial în stimularea și reglarea celorlalte glande endocrine, fapt pentru care complexul hipotalamo-hipofizar s-a denumit și „creier endocrin".

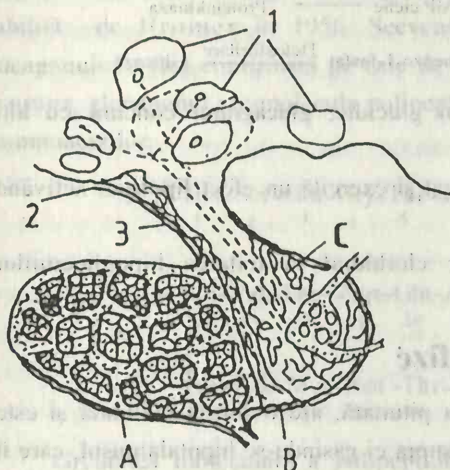


Fig. 3.4. Secțiunea schematică a regiunii hipotalamo-hipofizară:
A - lobul anterior al hipofizei;
B - hipofiza intermediară;
C - lobul posterior al hipofizei;
1 - nuclee hipotalamice;
2 - artera hipofizară superioară;
3 - vena portă hipofizară.

Hormonii hipotalamici. Deși hipotalamusul, respectiv nucleele hipotalamice sunt formațiuni anatomice distincte față de hipofiză, totuși funcțiile lor se găsesc într-o strânsă interdependență și, pentru urmărirea mai ușoară a acțiunii hipotalamusului asupra hipofizei, se prezintă întâi substanțele biologic-active elaborate de către hipotalamus.

Așa precum îi spune și numele, hipotalamusul este situat sub talamus, formațiune anatomică nervoasă existentă la baza creierului care are rol important în integrarea și transmiterea excitațiilor nervoase. Hipotalamusul are un diametru de 2,5 cm și o greutate de 4 g.

Hipotalamusul secretă mai multe substanțe biologic-active cărora li se spune conform acțiunii lor hormoni hipotalamici de eliberare sau hormoni hipotalamici cu rol inhibitor. Hormonii hipotalamici, numiți și factori de eliberare (Releasing Factors) sau de inhibiție (Inhibiting Factors) ai secrețiilor hipofizare, ajung la celulele hipofizei unde își manifestă acțiunea biologică.

Se cunosc nouă hormoni hipotalamici, care intră în funcția hipofizei și care se prezintă în tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. **Hormoni hipotalamici**

Hormoni de eliberare Hormon eliberator al corticotropinei (Corticotropin releasing hormone)	CRH	ACTH
Hormon eliberator al tirotropinei (Thyrotropin releasing hormone)	TRH	TSH
Hormon eliberator al hormonului luteinizant și hormonului foliculo-stimulator (Luteinizing hormone and follicle stimulating hormone releasing hormone)	LHRH/FSHRH	LH și FSH
Hormon eliberator al hormonului de creștere (Growth hormone-releasing-hormone)	GHRH	GH
Hormon eliberator al prolactinei (Prolactin releasing hormone)	PRH	Prolactina

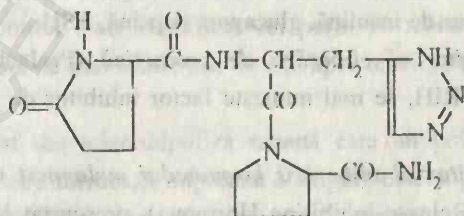
Tabelul 3.1. (continuare)

Hormon eliberator al hormonului melanocit-stimulator (Melanocyte stimulating hormone releasing hormone)	MRH	MSH
Hormoni inhibitori Hormon inhibitor al eliberării hormonului de creștere (Growth hormone-release-inhibiting hormone)	GHRIH	GH
Hormon inhibitor al eliberării prolactinei (Prolactin release inhibinting hormone)	PRIH	Prolactin
Hormon inhibitor al eliberării hormonului melanocit-stimulator (Melancyte-stimulating hormone release inhibiting hormone)	MRIH	MSH

După structura lor chimică, hormonii hipotalamici aparțin peptidelor cu greutate moleculară mică, unii din ei având secvența aminoacizilor bine cunoscută.

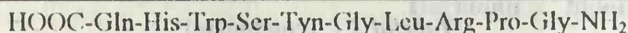
Hormonul eliberator de corticotropină (Corticotropin Releasing Hormone) cunoscut prin inițialele CRH, se mai numește și corticoliberină. A fost pus în evidență prin cercetările lui Saffran și Schally (1955). S-a arătat mai târziu că acest polipeptid este alcătuit din 41 resturi de aminoacizi. Concomitent cu stimularea eliberării de corticotropină (ACTH), CRH-ul stimulează și eliberarea de către adenohipofiză a unui alt compus biologic-activ numit β-endorfină. Acesta are de asemenea structură polipeptidică și are actiune opusă CRH-ului; este deci un inhibitor al ACTH-ului.

Hormonul eliberator de tirotropină (Thyrotropin Releasing Hormone) sau TRH, numit încă tireoliberină, este cel mai bine cunoscut. Din punct de vedere chimic, este un tripeptid format din acid glutamic, histidină și prolină. Structura chimică a acestui compus prezintă însă anumite particularități: acidul glutamic este sub formă ciclică (acid pirolidon-carboxilic sau acid piroglutamic), prolina este încatenată prin hidrogenul iminic, iar gruparea carboxilică a prolinei se găsește sub formă de amidă, conform următoarei structuri chimice:



Acest hormon a fost izolat de Guillemin (1969), folosind hipotalamusul de ovine. Se poate obține și sintetic.

Hormonul eliberator de hormon luteinizant și al hormonului foliculo-stimulator (Luteinizing Hormone and Folicle Stimulating Hormon Releasing Hormone), prescurtat prin inițialele LHRH-PSHRH, este din punct de vedere chimic un decapeptid izolat de Shally și colaboratorii (1971) din hipotalamusul de porcine, cu următoarea secvență a aminoacizilor componenți:


HOOC-Gln-His-Trp-Ser-Tyn-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2

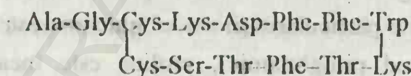
În structura acestui peptid prima componentă este glutamina şi nu acidul glutamic liber; la formarea grupării -NH-CO- participă gruparea aminică legată de carbonul 2 al glutaminei, încât este explicabil ca la celălalt capăt glicina să aibă grupa -NH_2 liberă. Acest hormon este cunoscut şi sub numele de gonadoliberină, având proprietăţi de a stimula eliberarea de LH şi PSN (FSH). Producerea LHRH-ului este diminuată de prezenţa hormonilor steroidici din circulaţie.

Hormonul eliberator al hormonului de creştere (Growth Hormone-Releasing Hormone) sau prescurtat GHRN, se mai numeşte hormon eliberator de somatotrofină. Acest hormon hipotalamic este un polipeptid alcătuit din minimum 40 resturi de aminoacizi şi a fost găsit şi în pancreas (Schally, 1970). Secreţia mărită în acest hormon determină perturbări grave în creşterea organismului, care se manifestă prin creşterea exagerată a capului şi membrelor, iar în caz de hiposecreţie, creşterea în înălţime este total insuficientă (nanism).

Hormonului eliberator de prolactină (Prolactin Releasing Hormone), prescurtat PRH, nu i se cunoaşte structura chimică.

Hormonul eliberator al hormonului melanocit-stimulator. (Melanocyte Stimulating Hormone Releasing Hormone), prescurtat MRH, stimulează secreţia hormonului melanotrop (MSH). Are structură polipeptidică.

Hormonul inhibitor al eliberării hormonului de creştere (Growth Hormone Release-Inhibiting Hormone), prescurtat GHRIH, se mai numeşte şi factor inhibitor de somatotropină sau încă somatostatină. Este un polipeptid alcătuit din 14 resturi de aminoacizi având următoarea secvenţă:


Ala-Gly-Cys-Lys-Asp-Phe-Phe-Trp
Cys-Ser-Thr-Phe-Thr-Lys

Somatostinul este secretat nu numai de hipotalamus ci şi de celulele δ ale insulelor lui Langerhans. Acest compus biologic-activ inhibă şi secreţia gastrică (fiind găsit şi în tubul digestiv), eliberarea de insulină, glucagon, pepsină, TSH.

Hormonul inhibitor al eliberării de prolactină (Prolactin Release Inhibiting Hormone), prescurtat PRIH, se mai numeşte factor inhibitor de prolactină; manifestă şi alte acţiuni inhibitoare.

Hormonul inhibitor al eliberării hormonului melanocit stimulator (Melanocyte-Stimulating Hormone Release-Inhibiting Hormone), prescurtat MRIH; nu i se cunoaşte structura chimică; probabil are o structură peptidică.

Activitatea factorilor de eliberare hipotalamici reclamă prezenţa oxigenului şi a cationilor de sodiu şi calciu.

Prezenţa cationilor de potasiu le măreşte activitatea. Aceşti factori hipotalamici pot fi însă şi lesne inactivaţi, probabil pe cale enzimatică.

În afară de neurohormonii menţionaţi, hipotalamusul secretă şi o serie de substanţe biologic-active numite mediatori chimici care, de asemenea, pot influenţa secreţiile de

hormoni hipofizari. Dintre aceştia se pot exemplifica: noradrenalina, dopamina, serotonina, acidul glutamic, glicina şi altele.

O a treia categorie de substanţe biologic-active secretate de hipotalamus o constituie ciberninele. Acestea au structură peptidică şi manifestă o acţiune de modulare lentă şi locală.

Hormonii adenohipofizari. Adenohipofiza se formează în timpul vieţii uterine. În faza matură a organismului ea are o structură tipic glandulară şi este constuituită din trei categorii de celule: celule cromofobe, acidofile şi bazofile. Această clasificare are drept criteriu interacţiunea dintre celule şi unii coloranţi organici. Astfel, celulele cromofobe nu reţin nici coloranţii acizi şi nici bazici, ele nu au activitate hormonală şi probabil au rol de precursor pentru formarea celorlalte categorii de celule. Aşa cum rezultă şi din denumirea lor, celulele acidofile interacţionează cu coloranţii acizi, iar celulele bazofile interacţionează uşor cu coloranţii bazici. De exemplu, eozina (un colorant acid, derivat bromurat al fluoresceinei) interacţionează uşor cu celulele acidofile, motiv pentru care acestea se mai numesc şi celule eozinofile. Proprietatea de secreţie hormonală o au numai celulele acidofile şi bazofile.

Hormonul de creştere. Numit şi hormon somatotrop sau STH, este secretat de celulele eozinofile. Folosind iniţialele cuvintelor din limba engleză (Growth Hormone), hormonul de creştere se mai denumeşte şi GH.

În anul 1921, Evans şi Long au obţinut un extract impur, din hipofiza anterioară, care s-a dovedit foarte activ în stimularea creşterii, determinând apariţia fenomenelor de gigantism.

Hormonul de creştere a fost izolat pentru prima oară în stare pură de către Li şi colaboratorii (1945) din adenohipofiza bovinelor, ovinelor şi porcinelor, studiindu-i apoi şi proprietăţile (1948); Wilhelmi şi colaboratorii l-au obţinut în stare cristalină (1948).

Cercetările au pus în evidenţă că acest hormon are o structură peptidică şi în funcţie de masa lor moleculară, respectiv în funcţie de specia animală de la care s-a extras, se cunosc mai mulţi compuşi biologic-activi, adică mai multe somatotropine. În macromolecula hormonului s-au identificat cel puţin 16 resturi de aminoacizi diferiţi, dintre care unii se repetă de mai multe ori, de exemplu leucina, treonina, acidul glutamic, arginina, lizina şi alţii.

Hormonul izolat din adenohipofiza umană este un polipeptid alcătuit din 190 resturi de aminoacizi, care formează împreună o singură catenă polipeptidică, având două punţi disulfurice intracatenare. Hormonul de creştere obţinut de la maimuţă este alcătuit, de asemenea, dintr-o singură catenă polipeptidică, în timp ce produsul izolat din adenohipofiza altor animale este alcătuit din două catene, sau chiar o catenă ramificată. Greutatea moleculară a hormonului uman este de circa 22 000, după unele cercetări 21 500, „little STH", iar pentru cei proveniţi de la diferite animale este mai mare, variind între 25 000 şi 48 000, „Big STH"; aceşti hormoni diferă şi prin secvenţa aminoacizilor.

STH-ul uman este puţin solubil în apă şi este uşor atacat de enzimele proteolitice (pepsină, tripsină etc.). Este puţin solubil în mediul acid, dar este mai stabil în mediul alcalin. Prin încălzire la 70...80°C îşi pierde activitatea.

Biosinteză și secreție. Este bine cunoscut faptul că biosinteza hormonului de creștere are loc în celulele acidofile ale adenohipofizei; sub influența diferiților factori hipofiza umană secretă zilnic aproximativ 4-5 mg de STH. Probabil că în plasmă acest hormon circulă complexat de o α-macroglobulină.

Secreția adenohipofizară și concentrația hormonului de creștere în plasmă sunt influențate de mai mulți factori.

Primul factor care intervine în reglarea secreției de hormon somatotrop este propria sa concentrație în plasma sanguină, care prin conexiune inversă (reacție de feed-back) determină stimularea sau inhibarea secreției glandei adenohipofizare.

Un al doilea factor îl constituie glicemia; hiperglicemia inhibă secreția de STH, iar hipoglicemia, indiferent de natura ei, o stimulează.

Importanță deosebită în secreția STH-ului o are hipotalamusul. Factorul hipotalamic eliberator de somatotropină, numit și somatoliberină, stimulează secreția de STH, în timp ce somatostatina hipotalamică (GHRIH) are proprietatea de a inhiba secreția de hormon somatotrop.

Secreția de STH depinde și de noradrenalină, serotonină și dopamină, fie prin stimularea somatoliberinei, fie prin inhibarea GHRIH-ului.

Aminoacizii și în mod deosebit arginina determină intensificarea secreției de somatotropină. S-a pus în evidență pe cale experimentală că introducerea de arginină în organism declanșează o creștere imediată a concentrației în STH.

În reglarea secreției de STH intervin unii hormoni, cum sunt hormonii tiroidieni care stimulează secreția, în timp ce estrogenii și în mod deosebit progesterona o inhibă. Este de menționat că stresul, exercițiile fizice mai îndelungate determină creșterea secreției de STH.

Rol în organism. Activitatea biologică a somatotropinei depinde de proveniență; astfel, hormonul obținut din hipofiza bovinelor este mai puțin activ decât cel provenit din hipofiza umană sau de maimuță.

Rolul important al acestui hormon constă în stimularea creșterii organismului, prin stimularea creșterii oaselor și a cartilagiilor, a mușchilor, a organelor interne și mai ales a celor din cavitatea abdominală, a țesuturilor grase, a colagenului etc. Procesele de creștere sunt un rezultat al metabolismului și în mod deosebit al anabolismului, încât somatotropina intervine în transformările metabolice ale proteinelor, lipidelor, glucidelor și în metabolismul hidromineral.

S-a demonstrat că la animalele hipofizectomizate are loc o intensificare a catabolismului proteic. Prezența somatotropinei stimulează sinteza proteinelor prin favorizarea trecerii aminoacizilor prin membrana celulară în interiorul celulei; concomitent crește și secreția de insulină, care mărește permeabilitatea membranelor celulare pentru aminoacizi. Prezența aminoacizilor în celulă favorizează biosinteza ARN-ului la nivelul ribozomilor, iar ARN-ul stimulează sinteza de proteine. Se apreciază că STH-ul și insulina inhibă catabolismul aminoacizilor.

Intensificarea procesului de biosinteză a proteinelor creează posibilitatea dezvoltării cartilagiilor de creştere prin stimularea biosintezei acizilor condroitinsulfurici, care joacă rol de matrice în formarea ţesuturilor cartilaginoase şi, în consecinţă, apare accelerarea creşterii oaselor. Prezenţa STH-ului stimulează încorporara fosfaţilor în oase şi în acelaşi timp sinteza de colagen

În cazul metabolismului glucidelor, STH-ul are o acţiune hiperglicemiantă; aceasta se explică prin inhibarea catabolizării glucozei, creşterea depozitelor de glicogen şi împiedicarea pătrunderii glucozei în celule pentru a fi supusă degradărilor enzimatice. În acelaşi timp, STH-ul inhibă conversia glucidelor în grăsimi, iar pentru stimularea secreţiei insulelor lui Langerhans, apare şi glucagonul care are, de asemenea, acţiune hiperglicemiantă. Acţiunea prelungită a STH-ului determină epuizarea celulelor secretoare de hormoni pancreatici, ceea ce ar favoriza apariţia diabetului. Într-adevăr, pe cale experimentală s-a dovedit că STH-ul agravează diabetul pancreatic experimental; dacă se extirpă hipofiza, boala slăbeşte mult în intensitate.

În metabolismul lipidic, STH-ul are o acţiune catabolizantă, prin intensificarea procesului de lipoliză şi ca urmare creşte concentraţia de acizi graşi liberi în sânge. Aceştia sunt supuşi β oxidării la nivelul muşchilor şi ficatului, ducând la creşterea concentraţiei în acetil-CoA şi la procese eliberatoare de energie. Concomitent, creşte şi concentraţia în corpi cetonici; STH-ul are şi o acţiune de inhibiţie a lipogenezei.

Se poate trage concluzia că somatotropina stimulează anabolismul proteic, diminuează metabolismul glucidic şi favorizează catabolismul lipidic.

În metabolismul mineral, STH-ul creşte resorbţia fosfaţilor la nivelul rinichilor, favorizează absorbţia intestinală a calciului, determinând creşterea concentraţiei în sodiu, potasiu şi fosfaţi în sânge; creşte şi cantitatea de apă în ţesuturi.

Hiposecreţia de somatotropină apărută în fragedă copilărie determină nedezvoltarea organismului, provocând boala numită nanism hipofizar. În acestă situaţie creşterea organismului nu are loc, iar scheletul nu se dezvoltă normal. Corpul, deşi rămâne mic, este bine proporţionat, iar organele interne sunt proporţionale cu organismul. Apariţia dinţilor întârzie. Dezvoltarea sexuală nu are loc în cele mai multe cazuri, vocea rămâne ca de copil, pilozitatea nu apare. Dezvoltarea psihointelectuală este obişnuit normală.

Hipersecreţia de STH, apărută în copilărie, determină o creştere exagerată a oaselor şi practic a întregului organism, ducând la gigantism. Înălţimea corpului poate ajunge la 2,43 m. Treptat, poate să scadă capacitatea intelectuală. Dacă hipersecreţia de hormon somatotrop apare la adult, determină dezvoltarea oaselor în diametru; oasele late cresc în grosime, iar părţile moi se dezvoltă mai mult ca o consecinţă a proliferării ţesutului conjunctiv. Mâinile devin mai groase şi degetele umflate. Se dezvoltă mandibula, limba creşte în mod exagerat, faţa se poate deforma prin aceea că bărbia este împinsă înainte, nasul se îngroaşă şi se lăţeşte, iar buzele devin mai mari şi umflate. Capul devine, de asemenea, mai mare; este tulburată şi funcţia unor glande endocrine.

Hormonul tireotrop. Numit şi tireotropină sau TSH, face parte din categoria hormonilor endocrinotropi, care au specificitate de acţiune asupra altor glande endocrine

(glandotropi). Acești hormoni intervin asupra dezvoltării unor glande și asupra funcționării lor, stimulând eliberarea hormonului caracteristic, ceea ce justifică denumirea lor de tropine, respectiv de stimuline. În organism există o strânsă corelație între adenohipofiză și glanda coordonată de către ea, această corelație având caracter de reciprocitate.

Hormonul tireotrop sau tireostimulator are proprietatea de a stimula funcționarea glandei tiroide (tireostimulină sau tireotrofină); extirparea lobului anterior al hipofizei determină atrofierea tiroidei. TSH-ul este secretat de celulele bazofile (tireotrope) ale adenohipofizei.

Tireotropina a fost izolată de către Aron și Loeb (1930), independent unul de altul.

S-a precizat de multă vreme că din punct de vedere structural hormonul tireotrop este o glucoproteidă, a cărei masă moleculară este cuprinsă între 25 000 și 28 000 sau chiar mai mult. Conținutul în zaharuri este de 6-8%, fiind format din glucoză, glucozamină, manoză, galactozamină și fucoză. Conține și tioaminoacizi (cisteină) în proporție apreciabilă, încât în molecula hormonului există mai multe legături disulfurice, probabil opt sau nouă. După unele cercetări, partea glucidică conține o moleculă de fucoză, 9 sau 10 molecule de manoză, cel puțin 6 molecule de glucozamină și 3 molecule de galactozamină.

Deși prezintă o bună stabilitate față de enzimele proteolitice, totuși, în prezența pepsinei, tripsinei sau chimotripsinei, TSH-ul este inactivat după un timp mai lung de acțiune a acestor enzime. Activitatea hormonului tireotrop este inhibată atât prin hidrogenarea legăturilor disulfurice, cât și prin îndepărtarea hidrolitică a grupării prostetice (partea glucidică).

S-a determinat că TSH-ul uman, foarte pur, are o activitate de 20UI/mg; o unitate internațională este egală cu 13,5 mg de hormon tireotrop provenit de la bovine, utilizat pentru cercetări biologice. Conținutul în acest hormon în lobul anterior hipofizar variază cu specia zoologică. Un kilogram hipofiză uscată de șobolan conține până la 1 000 000 UI, cea de porcine până la 3 000 000, cea de bovine până la 120 000, iar cea de ovine până la 80 000 UI.

Un polipeptid cu activitate hormonală și proprietăți chimice asemănătoare TSH-ului s-a extras și din placenta umană, numit tireotrofina corionică umană.

Biosinteză și secreție. După Murray și Ezrin, biosinteza tireotropinei are loc în celulele bazofile ale adenohipofizei. La un adult conținutul de TSH în glanda hipofiză este de 0,3 mg, iar în plasma sanguină acest hormon se găsește într-o concentrație de 1-2 mg/ml, valoare care crește mult în caz de necesitate, de exemplu insuficiența tiroidiană.

Un rol important în secreția TSH-ului îl are hipotalamusul prin acțiunea factorului tireostimulator (TRH) sau TRF (Tyreotrop Releasing Fctor). Legătura între hipotalamus și adenohipofiză se face pe cale umorală. Concomitent cu tireostimulina, reglarea secreției de TSH depinde și de concentrația plasmatică în hormoni tiroidieni (tiroxina și

triiodotiroina). Probabil că tiroxina diminuează acţiunea TRF-ului hipotalamic faţă de activitatea celulelor producătoare de hormon tireotrop. Afirmaţia se bazează pe constatarea conform căreia excesul de tiroxină din circulaţia sanguină determină inhibarea secreţiei de TSH şi invers, adică scăderea concentraţiei în hormoni tiroidieni determină sporirea activităţii de eliberare a TSH-ului. Într-adevăr, extirparea tiroidei determină creşterea excesivă a celulelor adenohipofizare, ceea ce duce la creşterea concentraţiei în sânge a TSH-ului. La rândul ei, concentraţia crescută în TSH poate influenţa secreţia de TRF hipotalamic prin efect de feed-back.

Secreţia tireostimulinei este influenţată de mulţi alţi factori: stresul provocat de senzaţia de frig determină sporirea secreţiei de TSH; stările provocate de diferite emoţii sunt implicate în funcţia adenohipofizei.

Rol în organism. Principala acţiune a hormonului tireotrop este legată de procesele biochimice care stau la baza formării hormonilor tiroidieni. Dezvoltarea şi funcţia glandei tiroide se găsesc sub acţiunea stimulatoare a TSH-ului. În funcţie de acţiunea lor se consideră că există mai multe tireostimuline, şi anume: TSHg - hormon care stimulează creşterea tiroidei (Growth = creştere), TSHm - hormon care stimulează biosinteza hormonilor în glanda tiroidă (iniţiala *m* provine de la cuvântul metabolism) şi EPS produs care favorizează apariţia exoftalmiei întâlnită în cazul bolii lui Basedow. EPS-ul (exophtalmos producing substance) este o glucoproteidă pusă în evidenţă în adenohipofiza diferitelor specii de animale, dar şi în plasma sanguină a bolnavilor de exoftalmie. Acest produs biologic-activ are rol important în formarea mucopolizaharidelor cu un conţinut ridicat în sulf.

Pe cale experimentală, s-a demonstrat că TSH-ul determină creşterea în greutate a glandei tiroide; concomitent cu mărirea ei dimensională se măreşte proprietatea glandei de a capta iodul din plasmă în vederea folosirii lui pentru biosinteza hormonilor ioduraţi. În prezenţa TSH-ului, concentraţia iodului în coloidul glandular creşte de 25 până la 350 ori. Se ştie că prin extirparea hipofizei apare scăderea în volum sau chiar atrofierea glandei tiroide, deoarece TSH-ul coordonează şi vascularizarea acestei glande.

TSH-ul îndeplineşte şi un rol proteolitic, care constă în desfacerea hidrolitică a tireoglobulinei iodurate cu eliberarea triiodo- sau tetraiodotiroxinei (vezi subcap.3.2.1) şi trecerea lor în circuitul sanguin.

Procesul de captare a iodului de către glanda tiroidă şi secreţia hormonilor tiroidieni, sub influenţa TSH-ului, nu se desfăşoară simultan. S-a observat că secreţia de hormoni tiroidieni are loc după 2-3 ore de la administrarea tireostimulinei, iar captarea iodului după un interval de timp de circa 24 ore.

Cercetările au pus în evidenţă existenţa în sângele hipertiroidienilor a unui alt factor de stimulare a glandei tiroide, care are o acţiune mai prelungită decât a TSH-ului şi care se numeşte LATS (long acting thyroid stimulator). Se pare că originea acestui factor este extrahipofizară şi apare în cazuri patologice.

TSH-ul intervine şi în alte procese din organism, de exemplu în procesul de hidroliză a lipidelor, eliberându-se acizii graşi, proces în care este implicată şi adenilatciclaza şi AMP-ciclic. Modificările metabolice apar la circa 30-40 minute de la

administrarea TSH-ului. Are loc o intensificare a metabolismului bazal, scade cantitatea de glicogen hepatic, crește consumul de oxigen și se intensifică oxidarea glucozei. Are loc și o accelerare a procesului de reînnoire a fosfolipidelor și a sintezei de ARN.

TSH-ul accelerează activitatea inimii și stimulează funcția sistemului nervos.

Hormonul adenocorticotrop. Se mai numește corticotropină sau corticostimulină (ACTH), denumiri care sugerează acțiunea hormonului asupra corticosuprarenalei.

Smith și Forster au arătat că extirparea hipofizei determină atrofia părții corticale a glandei suprarenale (1926). Mai târziu, Evans, Houssay și alții (1933) au demonstrat că extractele adenohipofizare stimulează cortexul suprarenal la animale a căror hipofiză a fost extirpată. Peste un deceniu, Li, Sayers și alți cercetători au reușit să izoleze din hipofiza de ovine și porcine un compus proteic, care produce modificări morfologice și de secreție asupra corticosuprarenalei (1943).

În 1949, Hench și colaboratorii au constatat că ACTH-ul și cortizonul dau rezultate deosebit de bune în terapia unor maladii, în afară de insuficiența corticosuprarenală.

Strutura chimică a hormonului adenocorticotrop a fost stabilită de Bell (1954), iar Li a reușit să-l obțină sintetic (1963).

Din punct de vedere chimic, corticotropina este un polipeptid alcătuit din 39 resturi de aminoacizi, având o greutate moleculară de aproximativ 4500. Există mai multe corticotropine, în funcție de specia zoologică de la care se extrag, ce diferă între ele prin secvența aminoacizilor din pozițiile 25-32 inclusiv. Porțiunea variabilă nu este necesară activității biologice.

Din hipofiza de porc s-a izolat polipeptidul numit β-corticotropină, iar din cea de ovine și bovine α-corticotripina.

Secvența aminoacizilor din molecula de ACTH este următoarea:

Ser–	Tyr–	Ser-	Met–	Glu-	His–	Phe–	Arg -	Trp-	Gly-	Lys–	Pro–	Val–	Gly-	Lys–	Lys–	Arg —
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Arg -	Pro–	Val–	Lys–	Val–	Tyr–	Pro-	Asp -	Gly-	Ala -	Glu-	Asp -	Glu-	Leu-	Ala -	Glu-	Ala —
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
Phe–	Pro–	Leu-	Glu-	Phe												
35	36	37	38	39												

Diferențele între corticotropina provenită de la diferite animale este dată de următoarea secvență a aminoacizilor:

de bovine:	Asp-	Gly-	Glu–	Ala-	Glu–	Asp -	Ser-	Ala
	25	26	27	28	29	30	31	32
de ovine:	Ala-	Gly-	Glu–	Asp -	Asp -	Glu–	Ala -	Ser
de porcine:	Asp-	Gly-	Ala -	Gln-	Asp -	Glu–	Leu-	Ala

Primii 24 aminoacizi sunt aceiași la toate corticotropinele și reprezintă partea activă a hormonului, iar primii 13 formează o parte identică cu cea din hormonul melanotrop, din hipofiza intermediară.

Acetilarea grupărilor α-amino libere determină o scădere importantă a activității hormonale; un fenomen asemănător apare prin esterificarea grupărilor carboxilice libere. Prin tratare cu apă oxigenată, metionina din poziția 4 se oxidează la metionin-sulfonă, având loc și inactivarea hormonului.

O unitate internațională (UI) de corticotropină corespunde cu activitatea a 5 mg corticotropină purificată obținută din adenohipofiza porcinelor.

S-a pus în evidență că hormonul corticotrop din hipofiza umană are aceeași compoziție în aminoacizi ca și ACTH-ul din hipofiza de ovine și bovine, dar apare o diferență privind secvența lor în fragmentul 22-36.

ACTH-ul este termostabil și se inactivează prin acțiunea hidrolitică a tripsinei sau chimotripsinei.

Biosinteză și secreție. Biosinteza ACTH-ului se petrece în celulele bazofile ale lobului anterior hipofizar. Se consideră că ACTH-ul rezultă dintr-un precursor cu greutate moleculară de 31 000, care se numește proopiomelanocortin. În componența acestuia există și alte peptide hormonale ca, de exemplu, cele care stau la baza hormonului melanotrop (MSH). Apare deci o explicație logică (de geneză) a prezenței unui fragment polipeptidic identic în structura MSH-ului și ACTH-ului.

Secreția corticostimulinei este influențată de mai mulți factori, ca prezența hormonilor corticosteroizi în circulația sanguină, apoi stările psihice, senzațiile termice, infecții, răni, intervenții chirurgicale etc., când concentrația în plasmă devine maximă. Un rol important în secreția ACTH-ului îl are hipotalamusul prin hormonul eliberator de corticotropină (CRH), a cărui secreție este controlată de cortizol sau chiar de ACTH-ul din sânge prin mecanism feed-back. Într-adevăr, prezența ACTH-ului în concetrație mică stimulează formarea hormonului hipotalamic de eliberare (CRH), iar acesta stimulează activitatea adenohipofizară specifică. Procesul are loc și în sens invers.

De asemenea, concentrația ridicată de cortizol în sânge atrage inhibarea formării CRH-ului și în consecință biosinteza ACTH-ului este redusă. În cazul unei concentrații joase de cortizol, apare stimularea sintezei de CRH în hipotalamus și deci este stimulată biosinteza ACTH-ului; concomitent se intensifică și biosinteza cortizolului în cortexul suprarenal și apariția lui în plasmă.

Corelația dintre ACTH și corticosuprarenale este demonstrată prin faptul că în lipsa primului glandele corticosuprarenale se atrofiază.

Concentrația ACTH-ului în sânge, la om, scade repede, perioada de înjumătățire fiind 15-18 minute. Această concentrație este mai mare dimineața și scade către seară. În cazuri de stres, concentrația de ACTH crește și de peste 10 ori. ACTH-ul circulă în sânge cuplat cu o globulină și este repede reținut în capsulele suprarenale, sau inactivat în ficat sau în alte țesuturi.

Rol în organism. Influența ACTH-ului se exercită în primul rând asupra glandei corticosuprarenalei, care crește în greutate și în dimensiuni sub această influență. În același timp este stimulată secreția de corticosteroizi (corticosteronă, cortizol), estrogeni și androgeni. Secreția aldosteronului nu se găsește sub controlul ACTH-ului. Într-adevăr, s-a pus în evidență faptul că hormonul corticotrop stimulează numai zonele fasciculată și

reticulată ale corticosuprarenalei, care produc glucocorticosteroizi şi respectiv hormoni sexuali. Secreţia hormonilor steroizi sub influenţa ACTH-ului se petrece repede, în circa 7-8 minute.

S-a demonstrat, experimental, că administrarea de ACTH la un animal cu capsulele suprarenale atrofiate şi cu hipofiza extirpată determină o creştere în greutate a corticosuprarenalei şi o funcţionare normală a zonelor fasciculată şi reticulată. Dacă administrarea de ACTH are loc concomitent cu îndepărtarea hipofizei, nu mai are loc atrofierea ei, dimpotrivă, poate să apară o hipertrofie a corticosuprarenalei. Hipertrofia acesteia apare şi în stări de stres, care au drept consecinţă o creştere a secreţiei de ACTH.

Intensificarea secreţiei de hormoni glucocorticosteroizi determină scăderea concentraţiei în acid ascorbic şi în colesterol din capsulele suprarenale. Fenomenul are explicaţie logică, deoarece colesterolul este folosit în sinteze de corticosteroizi, proces în care se implică şi vitamina C.

Efectele stimulatoare ale ACTH-ului privind biosinteza corticosteroizilor se exercită prin intermediul adenilatciclazei-AMP-ciclic, în conformitate cu cercetările efectuate de Haynes şi Berthet. După aceşti cercetători, ACTH-ul creşte concentraţia de adenozin-monofosfat ciclic (cAMP) în cortexul suprarenalei; acesta activează fosforilaza care determină fosforoliza glicogenului. Glucoza eliberată determină apariţia $NADPH_2$, coenzimă necesară pentru îndepărtarea catenei laterale a colesterolului, fază importantă în corticosteroidogeneză.

ACTH-ul are proprietatea de a influenţa şi unele transformări metabolice; practic activează metabolismul glucidic, protidic şi lipidic. Sub influenţa acestui hormon este activat transportul glucidelor; apare hiperglicemia şi glicozurie, ca rezultat al procesului de gluconeogeneză, folosindu-se aminoacizi şi acizi graşi. Are loc şi o creştere a depunerii de glicogen în ficat.

Prezenţa ACTH-ului determină creşterea eliminării de azot amoniacal, ca rezultat al metabolizării aminoacizilor. Probabil că ACTH-ul mobilizează acizii graşi liberi din ţesuturile adipoase, proces la care este implicat şi AMP-ciclic, precum şi ionii de calciu.

Prezenţa în exces a ACTH-ului în sânge determină pigmentarea caracteristică, bronzată, a pielii, aspect constatat atât la animale de experienţă, cât şi la om. Probabail la acest proces participă şi alte substanţe biologic-active.

În glanda suprarenală, ACTH-ul stimulează sinteza de proteine şi acizi nucleici.

Hipersecreţia de ACTH, ca o consecinţă a hipertrofiei corticosuprarenalei, determină intensificarea catabolismului protidic. Drept urmare se instalează starea de obezitate, însoţită de hipertensiune arterială. Grăsimea se depune pe gât, ceafă, abdomen şi pe fese; sunt simptomele clinice ale sindromului Cushing.

Hiposecreţia de ACTH determină atrofierea şi scăderea activităţii corticosuprarenalei; această hiposecreţie poate fi generată de leziuni ale hipofizei sau ale hipotalamusului.

Hormoni gonadotropi. Aceştia se mai numesc şi hormoni sexotropi sau gonadotrofine; sunt substanţe biologic-active adenohipofizare, care controlează procesul

creşterii şi dezvoltării glandelor sexuale masculine şi feminine. Corelaţia funcţională dintre adenohipofiză şi gonade a fost pusă în evidenţă de către Growe, Cushing şi Homans (1910). Mai târziu (1921), s-a observat luteinizarea excesivă a ovarelor şi apoi s-a demonstrat rolul hipofizei în reglarea activităţii glandelor sexuale.

Hormonii gonadotropi au fost descoperiţi de Ascheim şi Zondek (1925). Aceştia sunt identici pentru ambele sexe şi stimulează activitatea glandelor genitale; spre deosebire de hormonii sexuali, ei nu au specificitate de sex. S-a constata că hormonii gonadotropi se diferenţiază între ei prin acţiuni specifice şi anume: prezintă acţiune foliculostimulantă (favorizează la femei dezvoltarea şi maturaţia folicului ovarian şi a celulelor germinative ale testiculului), stimulează şi controlează spermatogeneza la bărbat, cât şi maturaţia celulelor interstiţiale ale glandei, activând producţia de hormoni sexuali şi manifestă acţiune luteinizantă. Pentru fiecare acţiune lobul anterior hipofizar secretă câte un hormon.

Secreţia hormonilor gonadotropi apare la vârsta de 8-9 ani şi se amplifică la maximum în perioada pubertăţii, respectiv la 13-14 ani. În cazul bărbaţilor, secreţia de gonadotrofine este continuă, în timp ce la femei este în funcţie de ciclul estral şi dispare o dată cu menopauza.

Din punct de vedere chimic, hormonii gonadotropi sunt glucoproteide cu greutatea moleculară între 26 000 şi 30 000.

În timpul sarcinii se pot secreta hormoni gonadotropi şi de către placentă, eliminându-se prin urină. Se cunosc gonadotrofine urinare care provin şi din hipofiză; structura lor chimică este diferită faţă de a gonadotrofinelor hipofizare, datorită probabail unor fragmentări biochimice ivite pe parcurs.

Hormonul foliculostimulant. Se mai numeşte şi foliculomaturizant sau FSH (folicle stimulating hormone). Acest hormon este secretat de celulele bazofile (cromofile) şi a fost separat din urină sub denumirea de prolan A. Li şi Evans l-au izolat din hipofiza de ovine (1949), iar ceva mai târziu (1952), Li şi Pederson l-au obţinut în stare pură, stabilind că are o structură glucoproteidică. Dintre aminoacizii componenţi s-au identificat: arginina, cistina, acizii aspartic şi glutamic, histidina, izoleucina, lizina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, tirozina şi valina. Hormonul conţine circa 26% zaharuri, dintre care s-au identificat: manoza, galactoza, fucoza, N-acetilhexozamine şi acizi sialici. (Acidul sialic se mai numeşte şi acid neuraminic, având în moleculă mai multe grupe -OH, o grupă cetonică şi o grupă aminică, legate de o catenă de nouă atomi de carbon.) Greutatea moleculară a FSH-ului uman este apreciată la 17 000; hormonul însă poate exista şi sub formă dimerizată, cu greutăţi moleculare evident mai mari. FSH-ul este un produs solubil în apă, rezistent al acţiunea enzimelor proteolitice, însă în prezenţa unei enzime numită neuraminidază este îndepărtat acidul sialic şi hormonul devine inactiv. Tripsina îl inactivează parţial.

FSH-ul se găseşte în cantitate mai mare în adenohipofiza umană, în cantităţi medii în adenohipofiza de iepure şi de pisică sau de şobolan şi în cantităţi mai mici în cea de ovine şi bovine sau porcine.

Biosinteză şi secreţie. Biosinteza hormonului foliculo-stimulant are loc în celulele bazofile anterioare, de unde pătrunde în circulaţia sanguină. La copii, concentraţia în ser a acestui hormon este mică, însă la femei, în perioada de menopauză, ea creşte de circa 10 ori. FSH-ul se elimină prin urină, atât la femei, cât şi la bărbaţi.

Reglarea secreţiei acestui hormon este coordonată de hormonul de eliberare specific hipotalamic PSHRH (Folicle Stimulating Hormone Releasing Hormone). Activitatea gonadotropă a adenohipofizei este influenţată de hormonii sexuali. Aceasta se deduce din faptul că extirparea gonadelor unei femei tinere determină o creştere a hipofizei şi sporirea numărului de celule bazofile.

Eliberarea FSH-ului este stimulată atât de unele amine biogene, peptide bazice şi hormoni neurohipofizari, cât şi de unii factori externi ca mirosul, temperatura, lumina şi fără îndoială stările psihice.

Rol în organism. FSH-ul împreună cu hormonul luteinizant (LN) asigură, printr-o acţiune sinergică, dezvoltarea gonadelor, atât la femei cât şi la bărbaţi; gonadele sunt prevăzute cu receptori specifici pentru aceşti doi hormoni adenohipofizari.

La femei, FSH-ul determină o acţiune trofică, concretizată prin creşterea şi dezvoltarea glandelor sexuale. El favorizează dezvoltarea foliculelor de Graff, până la apariţia ovulaţiei şi declanşarea formării hormonilor estrogeni. Hormonul luteinizant, singur, nu poate determina secreţia de hormoni estrogeni de către folicul, fără intervenţia hormonului foliculostimulant. Acest hormon are rol în pregătirea ovarului pentru intervenţia hormonului luteinizant. În lipsa FSH-ului, acţiunea LH-ului se limitează la celulele interstiţiale ale ovarului.

Dacă se administrează FSH la o femelă cu hipofiza extirpată, foliculul ovarian nu ajunge la maturizare, nu secretă hormoni estrogeni şi nu apare fenomenul de ovulaţie (de eliminare a ovulului apt pentru fecundaţie). Dacă însă se administrează concomitent şi LH, ambele roluri ale foliculului ovarian sunt îndeplinite. Apare concluzia logică conform căreia FSH şi LH au acţiuni sinergice. Acţiunea FSH-ului şi în general a gonadotrofinelor hipofizare se manifestă în anumite perioade, producând modificări ale mucoasei uterine şi vaginale, favorizate şi de hormonii sexuali feminini, modificări care constituie ciclul estral. În primele 13-14 zile ale ciclului estral, concentraţia FSH-ului în plasmă este maximă şi scade mult în următoarea fază a ciclului.

La masculi, FSH-ul acţionează asupra celulelor germinative ale testiculului, apare creşterea acestuia, ca rezultat al stimulării procesului de dezvoltare a tubilor seminiferi. Este stimulată şi prima fază a spermatogenezei, care este activată şi de hormonii sexuali masculini, ducând la formarea spermatozoizilor. Rolul FSH-ului în organismul unui mascul s-a demonstrat pe cale experimentală; administrând acest hormon unui mascul hipofizectomizat, se desăvârşeşte procesul de spermatogeneză, formarea spermatozoizilor desfăşurându-se normal.

Hormonul luteinizant (LH). Se mai numeşte şi hormon stimulator al ţesutului interstiţial (ICSH) (Interstitial Cells Stimulating Hormone). Acest hormon a fost obţinut în stare pură din hipofiza de porcine de către Shedlovsky, Rothen, Greep şi alţii

(1940). În perioada anilor 1940-1942 a fost obținut și din hipofiza de ovine de către Li, Simpson și Evans. Mai târziu, P. G. Squire, C. H. Li și R. N. Anderson au reușit să obțină LH pur atât din hipofiza umană, cât și din urină (1960-1962). Produsul izolat din urină este denumit și prolan B.

Din punct de vedere al structurii chimice și acest hormon este o glucoproteidă, a cărei masă moleculară diferă funcție de specia zoologică. Astfel, LH-ul izolat din hipofiza de ovine are masa moleculară de aproximativ 40 000 și punctul izoelectric la $pH = 4,6$, iar produsul izolat din hipofiza de porcine are masa moleculară de 100 000 și punctul izoelectric la $pH = 7,5$. Ei se diferențiază și prin cantitățile de monozaharide din gruparea prostetică. Dintre glucidele componente ale grupării prostetice, s-au pus în evidență: manoza, galactoza, fucoza, N-acetilhexozamine și acizi sialici (neuraminici).

Sub formă activă, LH-ul este dimerizat, alcătuit din catene glucoproteidice lungi și neidentice. În componența lui există și cisteină, aminoacid care determină apariția în structura chimică a hormonului a legăturilor disulfurice; acestea sunt indispensabile activității hormonale. Prin hidrogenare, puntea cistinică se reduce, iar produsul își pierde activitatea biologică. LH-ul mai poate fi inactivat prin acetilarea grupărilor aminice și prin hidroliza enzimatică în prezența tripsinei. Dacă este supus acțiunii neuraminidazei, se îndepărtează acidul sialic din macromolecula LH-ului, dar activitatea hormonală nu se modifică. Nu este afectat de enzimele glicolitice.

Biosinteză și secreție. Biosinteza hormonului luteinizant are loc în celulele bazofile ale adenohipofizei. Procesul este controlat de factorul de eliberare hipotalamic LHRH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone). Cantități mici din acest hormon apar în circulația sanguină, unde pot fi dozate. Înaintea pubertății, concentrația LH-ului în sânge este foarte mică, practic nedecelabilă; ea crește după maturizare și devine apreciabilă la femei în perioada menopauzei. Se elimină prin urină. Concentrația LH-ului urinar este aceeași la bărbați, ca și la femei în perioada de menopauză.

Secreția LH-ului este influențată de hormonii estrogeni, progesteronă și testosteron. Lipsa hormonilor sexuali (cazul animalelor castrate) duce la creșterea concentrației LH-ului și FSH-ului. S-a constatat că la femeie, după menopauză, când secreția de hormoni sexuali încetează, concentrația gonadotrofinelor în plasmă este mai mare. Excesul de hormoni sexuali în circulație provoacă inhibarea secreției de LH și FSH. Progesterona și testosteronul inhibă mai ales secreția de LH.

S-a pus în evidență însă și proprietatea estrogenilor, care în exces influențează efectul factorului hipotalamic, de eliberare asupra secreției de LH, simultan cu inhibarea secreției de FSH, progesterona având acțiune inversă. Rezultă că hormonii sexuali intervin în reglarea secreției de FSH și LH, acționând direct asupra hipofizei și indirect asupra hipotalamusului.

Rol în organism. În organismul femelelor, LH-ul este secretat în ambele faze ale ciclului și favorizează maturarea foliculilor De Graaf și secreția de hormoni sexuali feminini, estrona și mai ales, estradiolul. Prin acțiune sinergică cu FSH-ul, LH-ul, stimulează ovulația și apoi produce ruperea foliculului și transformarea în corpul galben (corpus luteum), deci apare acțiunea sa luteinizantă. În acest proces a crescut și

acumularea de carotenoide în ovar. În continuare, LH-ul stimulează corpul galben în secreția de hormon de reproducere – progesteronă. S-a demonstrat că LH-ul este necesar corpului galben în producerea de progesteronă din acetat, favorizând selectiv biosinteza acestui hormon. Această sinteză a progesteronei în corpul galben necesită prezența vitaminei C în cantitate mare.

Concomitent cu acțiunea luteinizantă, LH-ul are și o acțiune interstițială asupra țesutului ovarian numit stromă corticală, care stimulează hormonii androgeni; LH-ul stimulează sinteza androgenilor de către ovar. Deci LH-ul activează foliculul, corpul galben și stroma.

În organismul bărbaților, LH-ul prezintă acțiune asupra dezvoltării celulelor interstițiale din testicul și stimulează și în acest caz producția de hormoni sexuali masculini, respectiv secreția de testosteronă, ceea ce îi justifică denumirea și de hormon stimulant al țesutului interstițial (ISCH). Prin acțiune sinergică cu FSH-ul, LH-ul stimulează procesul de spermatogeneză și de maturizare a spermatozoizilor. Totodată, LH-ul influențează apariția și dezvoltarea caracterelor sexuale secundare.

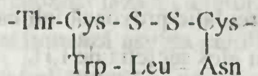
Hormonul luteotrop sau lactotrop. Este cunoscut și sub numele de prolactină sau LTH. Mai este denumit și hormon lactogen, euteotropină sau hormon mamotrop.

Pe cale experimentală, s-a demonstrat că îndepărtarea hipofizei determină încetarea lactației; prin administrare de hormon lactogen purificat, împreună cu unii steroizi, funcția glandelor mamare se restabilește.

Li, White și alții au separat din hipofiza de bovine și porcine luteotropina, sub forma unei proteine cu masa moleculară 32 000 și punctul izoelectric la $pH = 5,7$.

În 1972, Hwarg a izolat hormonul lactogen și i-a stabilit structura chimică, fiind un polipeptid cu masa moleculară de 23 000, constituit din 196 resturi de aminoacizi. Dintre aceștia s-au identificat: arginina, cisteina, acidul aspartic, acidul glutamic, glicocolul, histidina, leucina, izoleucina, lizina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, tirozina, triptofanul și valina.

Luteotropina de ovine are în constituție 198 resturi de aminoacizi, a căror secvență a fost stabilită de Li și colaboratorii. Este alcătuit dintr-o singură catenă peptidică care conține o punte disulfurică intracatenară și o buclă formată din trei aminoacizi:



Acizii glutamic și aspartic se găsesc în procent mai ridicat în componența acestui hormon, care este o proteină simplă fără grupă prostetică.

Biosinteză și secreție. Sinteza hormonului luteotrop se realizează în celulele acidofile ale adenohipofizei. În perioada de gestație și lactație acest hormon se secretă în cantitate mai mare.

Secreția LTH-ului se realizează prin reflexe, dar și prin intervenția factorului hipotalamic, inhibitor al eliberării de prolactină (PRIH). În cazul în care funcția hipotalamusului este întreruptă, celulele secretoare de LTH devin mai active și apare o secreție sporită a glandelor mamare. Secreția de hormon lactogen adenohipofizar este

stimulată şi prin acţiunea instinctivă de a suge la nivelul mamelonului. Administrarea de hormoni stimulează indirect secreţia de prolactină, prin scăderea concentraţiei factorului inhibitor de prolactină la nivelul hipotalamusului. O astfel de acţiune manifestă în mod deosebit estradiolul şi adrenalina.

Rol în organism. LTH-ul acţionează asupra glandei mamare stimulând dezvoltarea ei morfologică şi secreţia de lapte. În acelaşi timp, stimulează biosinteza enzimei lactozo-sintetază, care catalizează formarea lactozei în glanda mamară. În timpul sarcinii şi alăptării, concentraţia în prolactină creşte foarte mult, ajungând la 250 μg/ml de plasmă; în condiţii normale atât la femei, cât şi la bărbaţi această concentraţie este de numai 7 μg/ml plasmă.

Acţiunea prolactinei asupra glandei mamare şi secreţiei laptelui are loc însă în prezenţa altor hormoni. Astfel, la formarea canalelor mamare participă estrona şi unii hormoni corticoizi. Formarea laptelui este favorizată de prezenţa estronei şi corticosteroizilor, pe lângă prolactină, iar injectarea laptelui necesită prezenţa ocitocinei.

LTH-ul declanşează instincte materne şi de lactaţie la alte animale. Administrat unui clapon, acesta se manifestă ca o cloşcă, iar la porumbiţă dezvoltă guşa, organ care are rol în hrănirea puilor; instinctul păsărilor de formare a cuibului apare, de asemenea, sub influenţa acestui hormon.

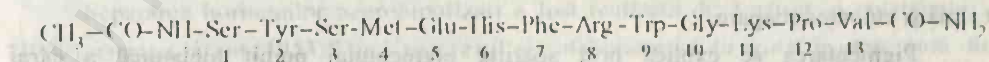
Acţiunea luteotropă constă în stimularea dezvoltării şi activităţii corpului galben, favorizând secreţia de progesteronă şi nidarea oului fecundat.

S-a verificat experimental că, la masculi, prolactina stimulează creşterea corporală analog STH-ului şi intervine în dezvoltarea glandelor sexuale. La om, are activitate asemănătoare hormonului de creştere.

Hormoni ai hipofizei intermediare. Lobul intermediar al hipofizei este mai dezvoltat la unele vertebrate (peşti, batracieni), însă la mamifere şi la om este practic înglobată în adenohipofiză. Acest lob elaborează hormonii melanofori, denumiţi şi melanotropine, intermedine sau hormoni melanocitostimulatori (MSH).

Hormonul melanotrop a fost izolat de Lerner (1955), constatându-se mai târziu că, în realitate, există două substanţe biologic-active: α-MSH şi β-MSH (melanocytes stimulating hormones).

Din punct de vedere chimic, ambele substanţe sunt polipeptide; α-MSH este alcătuit din 13 resturi de aminoacizi (tridecapeptid), a căror secvenţă a fost stabilită de Harris (1959) ca fiind aceeaşi pentru toate speciile de animale. În acest peptid, primul aminoacid este serina, având gruparea $-NH_2$ acetilată, iar la celălalt capăt se găseşte valina a cărei grupare carboxilică este sub formă de amidă:


$CH_3-CO-NH-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-CO-NH_2$
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Acest fragment polipeptidic este identic cu fragmentul primelor 13 resturi de aminoacizi din structura ACTH-ului, unde serina nu este acetilată.

În componenţa β-MSH-ului provenit de la animale există 18 resturi de aminoacizi, iar la cel de om 22. Se cunosc 5 tipuri de β-MSH de provenienţă animală, care diferă prin

natura aminoacidului din poziţia 2. β-MSH-ul izolat din hipofiza porcinelor are acid glutamic în poziţia 2 şi este foarte activ, iar cel de bovine şi ovine este mai puţin activ şi are în poziţia 2 serină. β-MSH-ul de om, maimuţă şi cal are acid glutamic în poziţia 2, ca şi cel de porcine.

Asp–Glu–Gly-Pro–Tyr-Lys–Met-Glu-His-Phe–Arg–Trp–Gly-Ser–Pro–Pro–Lys–Asp
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

α şi β-MSH-ul au fost obţinuţi şi pe cale sintetică (1959-1960).

S-a arătat că secvenţa minimă care prezintă acţiune stimulatorie este alcătuită din următorul fragment pentapeptidic:

-His-Phe-Arg-Trp-Gly, poziţiile 9-13, prezente atât în α şi β-MSH, cât şi în ACTH.

În cazul β-MSH-ului uman apare un tetrapeptid format Ala-Glu-Lys-Lys care este legat de primul aminoacid, din β-MSH-ul de porcine, iar în locul tirozinei din poziţia 6 se găseşte arginina.

În structura α şi β-MSH-ului şi a ACTH-ului există următorul fragment comun: -Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly- (poziţiile 7-13), ceea ce explică activitatea melanocitostimulatorie. Prin creşterea catenei în ambele capete ale heptapeptidului anterior, se intensifică acţiunea hormonală.

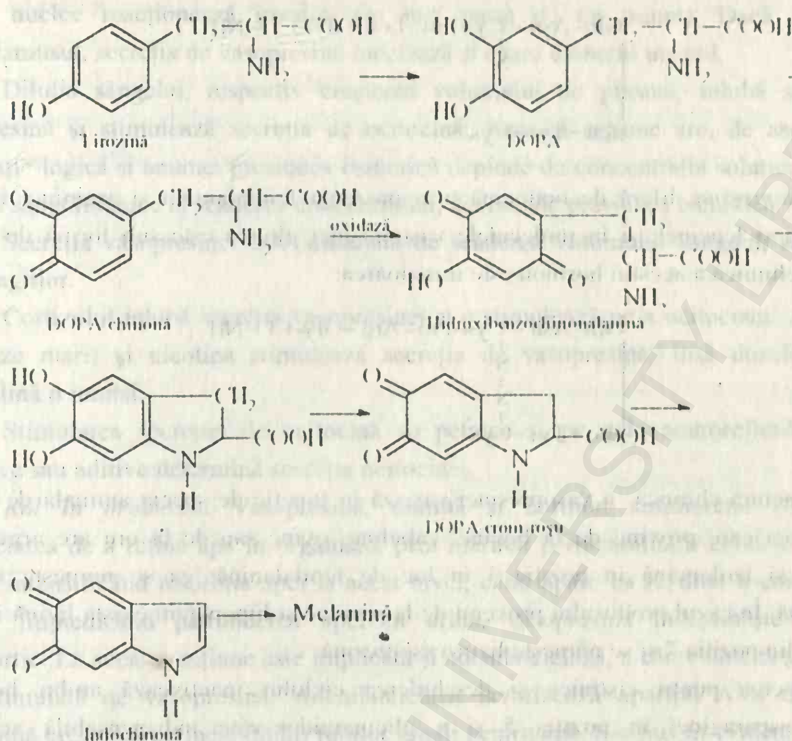
Biosinteză şi secreţie. Hormonii melanofori se sintetizează în celulele poligonale ale hipofizei intermediare, dar pot să apară şi în celelalte două regiuni hipofizare, mai ales în celulele bazofile adenohipofizare, care secretă şi ACTH. Aceasta ar constitui o explicaţie a înrudirii lor structurale. Melanogeneza este stimulată de razele ultraviolete.

În reglarea secreţiei MSH-ului intervine hipotalamusul prin hormonul de eliberare al melanocitului (MRH) şi prin hormonul inhibitor al secreţiei de MSH (MRIH). Cantităţi mici de esterogeni stimulează secreţia MRH-ului hipotalamic, iar cantităţile foarte ridicate o frânează.

Apariţia MSH-ului în circulaţie este influenţată şi de excitaţiile luminoase, prin intermediul sistemului nervos. La femeile gravide biosinteza de MSH este mai intensă.

Rol în organism. Hormonul melanotrop are rol în procesul de pigmentare a tegumentelor, care se realizează prin repartizarea granulelor de pigment în citoplasma celulelor de pigmentare ale pielii. Acţiunea hormonului este mai intensă la peşti, reptile, la vertebrate inferioare, decât la mamifere. Prin extirparea la broască a hipofizei apare albirea pielii, iar prin administrarea de MSH apare repigmentarea. La îndepărtarea hipofizei, granulele de pigment se aglomerează în jurul nucleului, încât celula devine fără pigment în citoplasmă; în prezenţa MSH-ului, granulele se repartizează iarăşi în întreaga celulă şi culoarea reapare.

Pigmentarea se explică prin apariţia pigmentului numit melanină, a cărui biosinteză este iniţiată de MSH. Acest hormon stimulează formarea tirozinei prin activarea tirozinazei, iar prin stimularea tirozin-hidroxilazei tirozina este oxidată la dihidroxifenilalanină (DOPA); prin oxidare, în continuare, duce la formarea melaninei, conform schemei probabile:



În cazuri de albinism, caracterizate prin lipsa melaninei, nu se găsește tirozină. De asemenea, în lipsă de MSH apare albinismul.

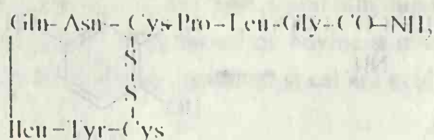
α-MSH-ul intervine și în procesul de eliminare a acizilor grași liberi (la iepuri). Prin injecții cu α- și β-MSH pe o perioadă de câteva săptămâni apare pigmentația pielii la om (se închide la culoare). Efectul este însă trecător; prin încetarea administrării hormonului, culoarea pielii se deschide (Lerue 1961).

MSH-ul stimulează formarea corticoizilor suprarenali, acțiune similară ACTH-ului, dar mult mai slabă. Se cunosc mai multe cazuri de acțiuni comune ale MSH-ului și ACTH-ului, de intensități diferite. Această comunitate de acțiune se explică prin asemănări structurale moleculare.

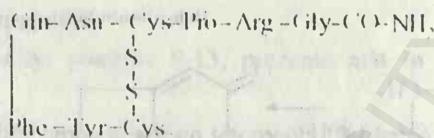
Hormonii hipofizei posterioare. Hipofiza posterioară este alcătuită din țesut nervos și se găsește într-o legătură organică și funcțională cu hipotalamusul, încât se admite că hipotalamusul anterior, respectiv nucleele hipotalmice cu lobul posterior al hipofizei formează o unitate morfo funcțională numită neurohipofiză. Produsele biologic-active mai importante secretate de neurohipofiză sunt ocitocina și vasopresina.

Separarea hormonilor neurohipofizari a fost realizată de Kamm și colaboratorii (1929), iar mai târziu (1953) Du Vigneaud și colaboratorii i-au izolat în stare pură din hipofiza bovinelor reușind să le stabilească structura chimică și să-i obțină sintetic. Ambii hormoni sunt octopeptide și au caracter bazic.

Ocitocina sau *oxitocina* este alcătuită din leucină, izoleucină, tirozină, prolină, glutamină, asparagină, amida glicocolului și cistină înlănțuite în modul următor:



Vasopresina diferă de ocitocină prin prezența fenilalaninei și argininei în locul izoleucinei și leucinei; și în moleculele vasopresinei glicina este sub formă de amidă. Structura chimică a acestui hormon este următoarea:



Structura chimică a vasopresinei variază în funcție de specia animală de la care provine; cea care provine de la bovine, cabaline, ovine sau de la om are arginină în poziția 7 și izoleucină în poziția 3 în loc de fenilalanină; ea se numește arginin-vasopresină. În cazul produsului provenit de la porcine și hipopotam există lizină în locul argininei din poziția 7 și se numește lizin-vasopresină.

Ruperea punții cistinice și deschiderea ciclului inactivează ambii hormoni. Prezența asparaginei în poziția 5 și a glicinamidei este indispensabilă activității ocitocinei, iar prezența argininei este necesară activității vasopresinei. Datorită asemănării structurale, cei doi hormoni prezintă în oricare măsură acțiuni comune, diferite însă ca intensitate.

Biosinteză și secreție. Cercetările efectuate cu atomi marcați (cistină cu S^{35}) au demonstrat că sinteza vasopresinei și ocitocinei se realizează în celulele hipotalamusului anterior. Acesta conține neuroni secretori specifici pentru hormonii respectivi. Atât vasopresina cât și ocitocina apar mai întâi în componența unei proteine specifice numită neurofizină; există câte o neurofizină pentru fiecare hormon. Cu ajutorul microscopului optic se poate observa neurosecreția care apare sub forma unor granule dense cu diametre care sunt cuprinse între 0,1 și 0,3 microni. Această neurosecreție se deplasează din hipotalamus în hipofiza posterioară unde se depozitează. În momentul eliberării, hormonul se desface de proteina specifică neurofizina, trecând în circulație. Prezența lor în plasmă este de scurtă durată; timpul de înjumătățire a vasopresinei este de 10-20 minute, iar al ocitocinei este de 3-10 minute. Sunt atacați și de unele enzime.

Reglarea secreției acestor hormoni se realizează prin mai multe căi. Astfel, secreția vasopresinei depinde de presiunea osmotică celulară și extracelulară. În caz de deshidratare, reacția vasopresinei este stimulată. Administrarea de ser hipertonic stimulează secreția de vasopresină, dar o inhibă pe a ocitocinei. Stimularea secreției de vasopresină de către soluțiile hipertonice se face prin intermediul osmoreceptorilor hipotalamici, care sunt localizați la nivelul nucleelor supraoptice. Sensibilitatea acestor formațiuni anatomice este deosebit de ridicată; la variații de 1% a presiunii osmotice,

aceste nuclee reacționează imediat (în mai puțin de un minut). Dacă se extirpă hipotalamusul, secreția de vasopresină încetează și apare diabetul insipid.

Diluția sângelui, respectiv creșterea volumului de plasmă, inhibă secreția de vasopresină și stimulează secreția de ocitocină. Această acțiune are, de asemenea, o explicație logică și anume: presiunea osmotică depinde de concentrația soluției; creșterea diluției sângelui duce la scăderea concentrației, deci scade presiunea osmotică.

Secreția vasopresinei este stimulată de scăderea volumului sanguin, ca în cazul hemoragiilor.

Cortizolul inhibă secreția vasopresinei și o stimulează pe a ocitocinei. Adrenalina (în doze mari) și nicotina stimulează secreția de vasopresină, însă dozele mici de adrenalină o inhibă.

Stimularea secreției de ocitocină se petrece și pe cale neuroreflexă; excitații olfactive sau aditive determină secreția ocitocinei.

Rol în organism. Vasopresina, numită și hormon antidiuretic (ADH), are proprietatea de a reține apa în organism, prin mărirea permeabilității celulelor din tubii renali, intensificând resorbția apei la acest nivel, când apare ca rezultat o concentrare a urinei. Împiedicând pătrunderea apei în urină, vasopresina îndeplinește rolul său antidiurtic. La această acțiune este implicată și adenilatciclaza, a cărei sinteză și activitate este stimulată de vasopresină. Adenilatciclaza favorizează apariția AMP-ciclic, care determină creșterea permeabilității tubilor renali pentru apă. S-a pus în evidență faptul că ADH-ul și AMP-ciclic prezintă acțiuni comune asupra procesului antidiuretic uman. S-a constatat că intensificarea secreției de ADH determinată de deshidratare atrage creșterea notabilă a concentrației de AMP-ciclic în rinichi. Prezența cationilor de sodiu, potasiu și calciu în tubii renali favorizază reabsorbția apei la acest nivel și probabil intervine în sensibilizarea tubilor renali la acțiunea vasopresinei.

Hiposecreția ADH-ului favorizează poliuria și polidipsia, caracteristice diabetului insipid.

Prezența ADH-ului stimulează contracția mușchilor netezi și prin aceasta apare vasoconstricția care duce la creșterea presiunii interne (vasopresină). Presiunea arterelor cerebrale și renale nu este influențată. Efectul vasopresor apare la doze foarte mari și durează un timp scurt (10-15 minute de la injectare); în aceste condiții este stimulată și mișcarea peristaltică intestinală. ADH-ul are rol și în metabolismul electroliților, influențând eliminarea unor ioni metalici din organismul animalelor.

Ocitocina are ca rol fundamental stimularea contracției musculaturii netede a uterului, aspect de mare importanță în procesul expulzării fătului. Sensibilitatea uterului față de ocitocină este influențată de prezența unor hormoni sexuali. Progesterona scade sensibilitatea uterului față de ocitocină, în perioada de gestație; spre sfârșitul acestei perioade, concentrația de progesteronă scade și crește concentrația în estrogeni, care sensibilizează mușchii uterului la acțiunea ocitocinei. În timpul sarcinii, ocitocina este ușor inactivată de enzima specifică numită ocitocinază, anihilându-se astfel posibilitatea apariției unui avort determinat de ocitocină. O dată cu apropierea termenului de naștere,

activitatea ocitocinazei dispare, încât ocitocina își desfășoară acțiunea caracteristică la maximum.

O a doua acțiune importantă a ocitocinei se desfășoară la nivelul glandei mamare, stimulând ejecția laptelui, proces la care este implicată și prolactina, aceasta din urmă jucând rol mai important în procesul de formare a laptelui.

Actul suptului și eliberarea canalelor galactofore stimulează secreția de ocitocină prin intermediul stimulilor nervoși care, ajungând la hipotalamus, intensifică producerea și secreția de ocitocină.

Ocitocina apare în cantitate mai mare în timpul actului sexual și favorizează migrarea spermei prin tractusul genital.

Ocitocina are și o acțiune antidiuretică, care însă este neglijabilă în concentrații mici; acțiunea ei principală se desfășoară însă și la concentrații de 1/200 milioane.

3.2.7. Hormoni epifizari

Generalități. Epifiza este o glandă cu dimensiuni foarte mici și are forma unui fruct de pin, de unde a rezultat și denumirea de glandă pineală. Se găsește situată în regiunea epitalamică de la baza diencefalului, ceva mai sus de hipofiză. Are o formă ovoidă de mărimea unui bob de mazăre, cu dimensiunea de 7/3 mm și o greutate cuprinsă între 0,12 și 0,17 g pentru omul adult.

Se considera că glanda pineală avea funcția fotoreceptoare la reptilele existente în perioada preistoriei (un al treilea ochi), însă studiile cu ajutorul microscopului electronic din perioada modernă au arătat că această glandă este alcătuită din celule cu forme specifice denumite pinealocite, care au proprietăți de secreție. Aceste celule specializate au legături nervoase cu diencefalul și alte centre din apropierea glandei, ceea ce face ca activitatea ei să fie reglată pe această cale. Structura internă a glandei prezintă toate caracteristicele unei specializări superioare, cu proprietăți endocrine, influențate de lumină.

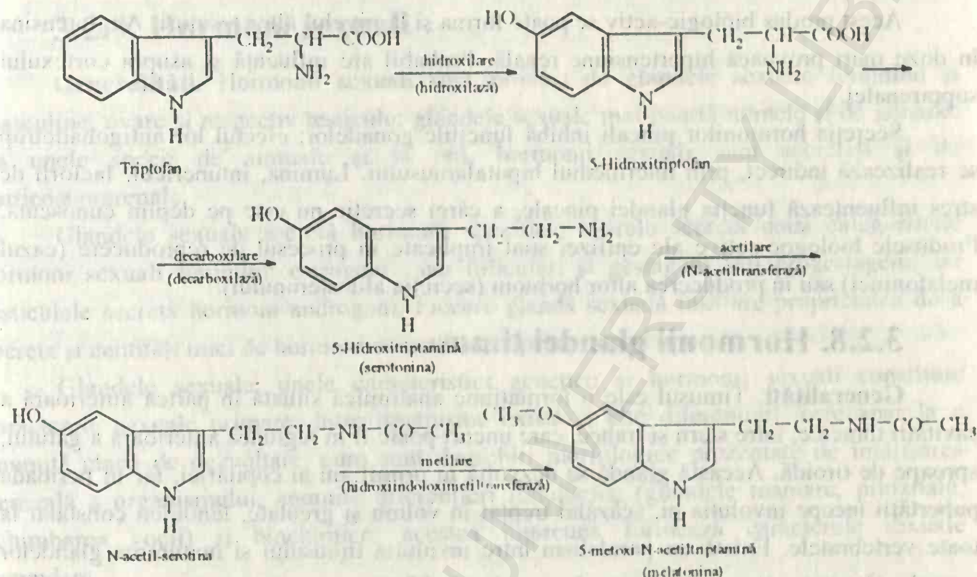
Unele observații anatomice referitoare la glanda pineală au fost făcute de Oggli (1899) și mai târziu de Norberg (1908), Pellizii (1910) și alții.

Cu studiul funcției acestei glande s-a ocupat Marburg (1920) și mai târziu i s-a acordat mare atenție de către endocrinologii români Constantin Parhon și Ștefan Mileu, care au fundamentat rolul endocrinic al epifizie (1939). Sub conducerea academicianului St. Mileu s-au continuat aceste studii (1957) și s-a urmărit și rolul glandei pineale în metabolismul glucidelor (1961).

Alte cercetări au demonstrat că epifiza, prin secrețiile sale, intervine asupra dezvoltării și funcțiilor organelor sexuale și asupra metabolismului. Această glandă secretă compuși biologic-activi cu structură indolică (melatonina) și cu structură peptidică (arginin-vasopresina și angiotensina II). Secreția acestora și a intermediarilor care apar în procesul lor de biosinteză este influențată de lumină.

Melatonina. Este principalul hormon epifizar, care are o structură chimică simplă, fiind un derivat al indolului, cu o catenă laterală în poziția 3 și o grupare metoxilică în poziția 5.

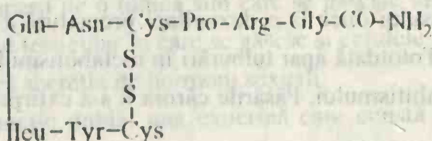
În organism, melatonina rezultă din triptofan, transformări ce se petrec în prezența enzimelor specifice, conform schemei:



Rolul biologic al melatoninei constă în deschiderea culorii tegumentelor la batracieni; are deci o acțiune contrară MSH-ului. Melatonina este secretată mai mult în timpul nopții decât în timpul zilei. Ea influențează și funcția gonadelor fiind antigonadotropă. Prezența epifizei inhibă dezvoltarea sexuală prea timpurie; hiperfuncția duce la întârzierea pubertății. Insuficiența secreției epifizei determină o maturare sexuală precoce, mai ales la masculi, însoțită de o creștere deosebită în înălțime.

Melatonina favorizează creșterea animalelor, ceea ce duce la interpretarea implicării ei în procese anabolice.

Arginin-vasopresina. Este un alt hormon elaborat și de glanda pineală, având structură peptidică, foarte asemănătoare cu a hormonilor hipofizei posterioare. Și acest hormon este un octapeptid, cu următoarea structură chimică:



Prezența sa în epifiza bovinelor a fost dovedită de academicianul St. Milcu și colaboratorii (1963). Mai târziu, s-a pus în evidență și în glanda porcinelor, ovinelor, iepurilor, a altor animale și a omului. Are proprietăți asemănătoare ADH-ului hipofizar (vezi subcap. 3.2.6.).

În glanda pineală și-a dovedit prezența și *angiotensina II*, compus octapeptidic, ce se formează din angiotensinogen (un tetradecapeptid), compus care în prezența reninei se degradează la un decapeptid numit angiotensină I, iar aceasta este convertită în prezența unei enzime de conversie la angiotensină II, cu următoarea structură chimică:



H_2N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-COOH

Acest produs biologic-activ se poate forma și la nivelul altor țesuturi. Angiotensina în doze mari provoacă hipertensiune renală. Probabil are influență și asupra cortexului suprarenalei.

Secreția hormonilor pineali inhibă funcțiile gonadelor; efectul lor antigonadotrop se realizează indirect, prin intermediul hipotalamusului. Lumina, întunericul, factorii de stres influențează funcția glandei pineale, a cărei secreție nu este pe deplin cunoscută. Produsele biologoc-active ale epifizei sunt implicate în procesul de reproducere (cazul melatoninei) sau în producerea altor hormoni (secreția aldosteronului).

3.2.8. Hormonii glandei timus

Generalități. Timusul este o formațiune anatomică situată în partea anterioară a cavității toracice, între stern și trahee, care uneori poate fi în regiunea anterioară a gâtului, aproape de tiroidă. Această glandă se dezvoltă în primii ani ai copilăriei, iar în perioada pubertății începe involuția ei, scăzând treptat în volum și greutate, fenomen constatat la toate vertebratele. Există un paralelism între involuția timusului și maturarea glandelor sexuale. Greutatea timusului ajunge la om până la 37-38g.

Glanda este foarte sensibilă față de razele X, mai ales țesutul limfoid, și față de infecții și intoxicații cu alcool, mercur, compuși cu arsen etc.

În structura histologică a glandei se disting celulele timocite, asemănătoare cu limfocitele care au activitate secretorie.

Rolul timusului în organism s-a pus în evidență prin extirparea sa, care duce la întârzierea creșterii, fenomen ce poate fi prevenit prin administrarea de extracte din această glandă.

Din timus s-au izolat mai multe extracte biologic-active, ca de exemplu *infertina* care are proprietăți antiestrogenice, *promina* care stimulează creșterea și diviziunea celulelor și *retina* care are proprietăți anticanceroase și de inhibare a acțiunii prominei.

Secrețiile glandei timus au și acțiune imunologică.

Îndepărtarea timusului duce la o dezvoltare prematură a glandelor sexuale și la o hiperfuncție a acestora. Totodată apar tulburări în metabolismul calciului și al fosforului; este favorizată apariția rahitismului. Păsările cărora li s-a extirpat timusul produc ouă fără coajă.

Timectomia stimulează funcționarea glandei tiroide, scade cantitatea de colesterol și acid ascorbic din suprarenale și determină apariția unor leziuni osoase. S-a arătat că timectomia determină scăderea cantității de fosfor circulant și a legării lui de nucleoprotide hepatice. Crește cantitatea de fosfor eliminat prin urină.

Cercetări româneşti (Parhon, Milcu, Lupulescu) au arătat că unele extracte din timus au proprietăţi antitumorale sau determină scăderea sintezei proteice şi a cantităţii de fosfor nucleoproteidic din tumori.

Legătura timusului cu alte glande este pusă în evidenţă prin rolul său inhibitor faţă de tiroxină, TSH, insulină, parathormon, estradiol; în general are rol antigonadotrop.

3.2.9. Hormoni sexuali

Generalităţi. Hormonii sexuali sunt produşi de glandele sexuale feminine şi masculine, ovare şi respectiv testicule; glandele sexuale mai poartă numele şi de gonade. La unele specii de animale şi la om, hormonii sexuali sunt secretaţi şi de corticosuprarenale.

Glandele sexuale secretă hormonii specifici; ovarele secretă două categorii de hormoni sexuali feminini: estrogeni sau foliculari şi gestageni sau progestageni, iar testiculele secretă hormoni androgeni. Fiecare glandă sexuală însă are proprietatea de a secreta şi cantităţi mici de hormoni caracteristici pentru sexul opus.

Glandele sexuale, unele caracteristici genetice şi hormonii sexuali constituie caracterele sexuale primare; între organisme există şi alte diferenţieri, care apar la o anumită etapă de dezvoltare, cum sunt deosebiri morfologice prezentate de înfăţişarea generală a organismului, anumite diferenţieri fiziologice (glandele mamare, pilozitate, schimbarea vocii) şi biochimice; acestea împreună formează caracterele sexuale secundare.

Ovarele sunt glande pereche, fiecare de mărimea unei prune, cu forma ovoidă, de coloraţie gălbuie, având o lungime de 3-5 cm şi o greutate de 4-8 g. La femeile adulte ovarul are o parte centrală sau medulară alcătuită din ţesut conjunctiv, bogată în nervi şi vase sanguine. Partea medulară este înconjurată de o parte corticală, acoperită la exterior de un epiteliu ovarian. În zona corticală se găsesc foliculii ovarieni numiţi şi foliculii de Graaf care în momentul naşterii sunt în număr de circa 300 000, dintre care ajung la maturitate 350-400.

Ovarul are o funcţie exocrină care constă în procesele de ovogeneză şi ovulaţie şi o funcţie endocrină, respectiv de producere şi secreţie a hormonilor sexuali.

Testiculele sunt de asemenea glande pereche, fiecare având formă ovoidă, cu mărime şi greutate variabilă, în funcţie de specia animală; la om această greutate ajunge la 25g. Testiculul este acoperit de o tunică sub care se găseşte un ţesut conjunctiv, iar în interior se află parenchimul testicular în care se găsesc şi celulele interstiţiale, denumite şi celulel Leydig, care asigură secreţia de hormoni sexuali.

Şi testiculele au funcţie dublă: una exocrină care constă în producere de gameţi masculi (spermatozoizi), funcţie asigurată de prezenţa celulelor sertoliene care se găsesc de-a lungul pereţilor tubilor seminiferi; cealaltă, endocrină, care constă în producerea şi secreţia de hormoni sexuali. Secreţia hormonilor are loc în celulele Leydig.

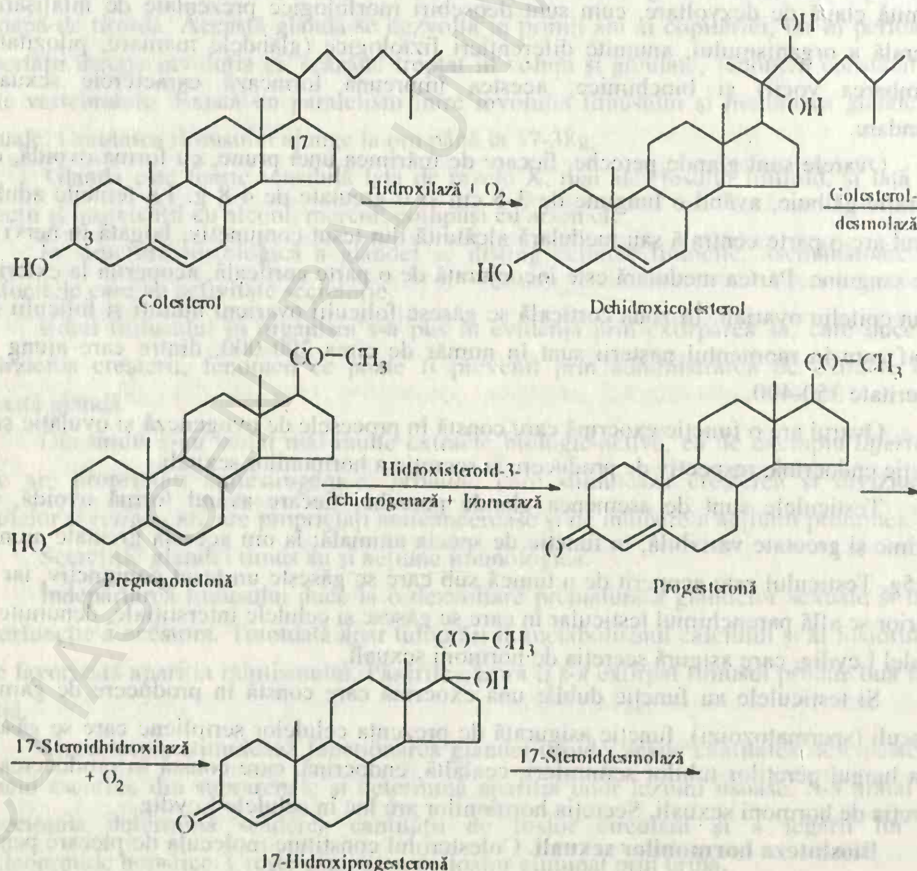
Biosinteza hormonilor sexuali. Colesterolul constituie molecula de plecare pentru biosinteza hormonilor sexuali, atât masculini, cât şi feminini. Aşa cum s-a arătat, prin cercetări cu atomi marcaţi, colesterolul este format la nivelul ficatului din acetat, sub

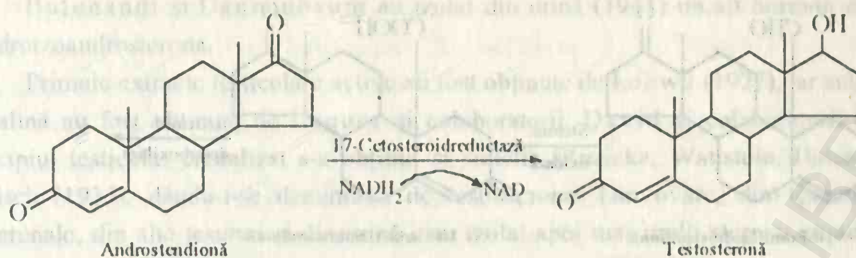
forma lui activă de acetil-CoA. În cazul vertebratelor s-a arătat că se poate forma colesterol din acetil-CoA în diferite organe, nu numai în ficat ci şi în rinichi, glandele sexuale şi suprarenale, în glanda timus şi în alte ţesuturi. Cea mai mare cantitate însă se formează în ficat.

Sediul principal al biosintezei hormonilor sexuali masculini (androgeni) îl constituie celulele testiculare Leydig, cel mai important reprezentant fiind testosterona.

Ca şi în cazul biosintezei corticosteroizilor, colesterolul sub acţiunea oxidantă a unei hidroxilaze se transformă în hidroxicolesterol; este începutul oxidării catenei laterale. Sub acţiunea enzimei colesteroldesmolază se produce o scindare oxidativă cu îndepărtarea catenei laterale şi formarea de pregnenolonă. Sub acţiunea enzimei hidroxisteroid- 3-dehidrogenază şi a unei izomeraze, pregnenolona se transformă în progesteronă, iar aceasta în prezenţa oxigenului şi a 17-steroid-hidroxilazei trece în 17-hidroxiprogesteronă. În prezenţa 17-steroiddesmolazei, aceasta din urmă formează androstendiona, pierzând catena formată din doi atomi de carbon din poziţia 17. Androsterondiona este redusă în prezenţa 17-cetosteroidoreductazei şi coenzimei $NADH_2$ la testosteronă.

Transformările chimice se pot schematiza în modul următor:





Ceilalţi hormoni androgeni se pot forma plecând de la androstendionă, care prin tetrahidrogenare se transformă în androsteronă, iar prin dehidrogenarea acesteia în poziţia 5-6 rezultă dehidroandrosterona.

Biosinteza androgenilor are loc şi în corticosuprarenală (vezi subcap. 3.2.4), fiind totdeauna dependentă de hormonul gonadotrop adenohipofizar ICSH.

Biosinteza hormonilor sexuali estrogeni are loc în ovare, placentă şi în corticosuprarenală. În cantitate mică aceşti hormoni sunt sintetizaţi şi în glandele testiculare de către celulele Sertoli.

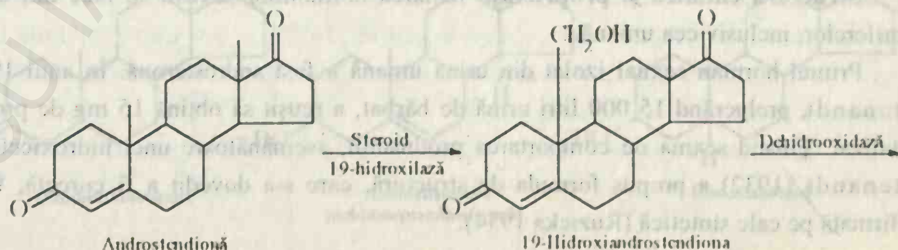
În stare normală, cea mai mare cantitate de hormoni sexuali estrogeni se produce în ovare, însă la femeile gravide şi mai ales spre sfârşitul perioadei de sarcină, placenta produce cantităţi de 100 până la 1 000 ori mai mari decât ovarele.

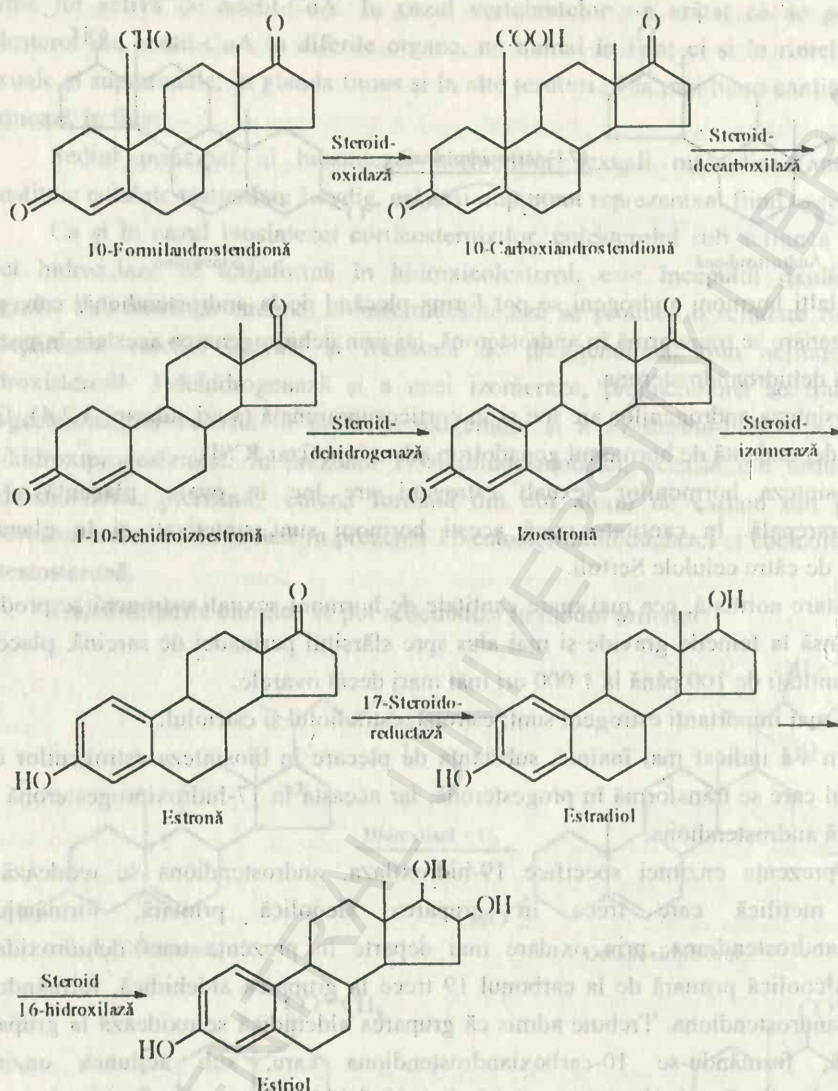
Cei mai importanţi estrogeni sunt: estrona, estradiolul şi estriolul.

Cum s-a indicat mai înainte, substanţa de plecare în biosinteza estrogenilor este colesterolul care se transformă în progesteronă, iar aceasta în 17-hidroxiprogesteronă din care rezultă androstendiona.

În prezenţa enzimei specifice 19-hidroxilaza, androstendiona se oxidează la gruparea metilică care trece în gruparea alcoolică primară, formându-se 19-hidroxiandrostendiona; prin oxidare mai departe în prezenţa unei dehidroxidaze, gruparea alcoolică primară de la carbonul 19 trece la gruparea aldehidică, formându-se 10-formil-androstendiona. Trebuie admis că gruparea aldehidică se oxidează la gruparea carboxilixă, formându-se 10-carboxiandrostendiona care, sub acţiunea enzimei steroiddecarboxilază, pierde CO_2 rezultând 1-10-dehidroizoestronă. Pentru formarea nucleului aromatic ce se găseşte în molecula estronei trebuie să aibă loc o dehidrogenare în poziţia 1-10, iar prin izomerizare în prezenţa unei izomeraze se formează estrona. Prin reducerea grupării cetonice din poziţia 17 se formează estradiolul, iar prin oxidare în prezenţa unei 16-steroidhidroxilaze rezultă şi estriolul.

Aceste transformări biochimice pot avea loc după următoarea schemă:





Biosinteza progesteronei are loc în corpul galben, în placentă şi în corticosuprarenală. Şi acest hormon provine din colesterol, care trece în hidroxicolesterol, apoi apare pregnenolonă, iar aceasta trece în progesteronă, urmând aceeaşi schemă ca şi în cazul formării androgenilor. Prin metoda atomilor mascaţi s-a demonstrat că şi progesterona poate fi sintetizată din acetat.

Structură chimică şi proprietăţi. Izolarea hormonilor sexuali se face din urina mamiferelor, inclusiv cea umană.

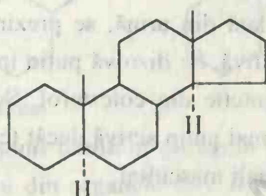
Primul horman sexual izolat din urina umană a fost androsterona. În anul 1931, Butenandt, prelucrând 15 000 litri urină de bărbat, a reuşit să obţină 15 mg de produs cristalizat. Ţinând seama de comportarea produsului, asemănătoare unei hidroxicetone, Butenandt (1932) a propus formula de structură, care s-a dovedit a fi corectă, fiind confirmată pe cale sintetică (Ruzicka 1934).

Butenandt și Dannenbaum au izolat din urină (1943) un alt hormon denumit dehidroizoandrosterona.

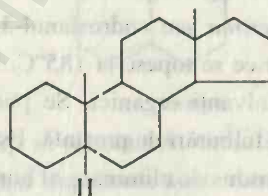
Primele extracte testiculare active au fost obținute de Loewe (1927), iar sub formă cristalină au fost obținute de Laquer și colaboratorii, David și colaboratorii (1935). Principiul testicular cristalizat s-a obținut și sintetic (Ruzicka, Wattstein, Butenandt și Hanisch (1935), dându-i-se denumirea de testosterona. Din ovare, din testicule, din suprarenale, din alte țesuturi și din urină s-au izolat apoi mai mulți steroizi cu activitate androgenă (Dorfman 1948).

Hormonii androgeni sunt din punct de vedere chimic derivați ai hidrocarburii androstan (aceasta făcând parte din seria *alo*, ceea ce înseamnă că molecula are o anumită conformație, toate cele patru cicluri fiind unite prin legături *trans*) și ai izomerului său cis numit etiocolan.

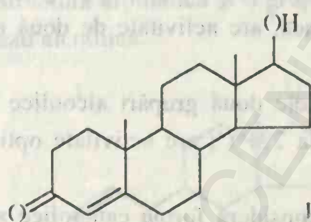
Cei mai importanți hormoni sexuali masculini sunt: testosterona, androsterona, dehidroandrosterona. Se cunosc însă un număr de compuși cu structuri chimice foarte asemănătoare, care au activitate hormonală și care se elimină prin urină, fiind uneori considerați produși intrmediari metabolici. Dintre aceștia se cer menționați dehidrotestosterona, dehidrosterona (androstenolonă), etiocolanolona, androstandiolul, androstendiona etc.



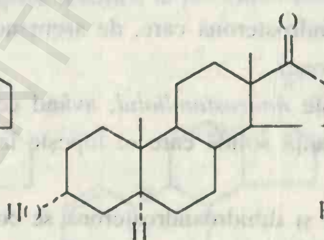
Androstan (*trans*)



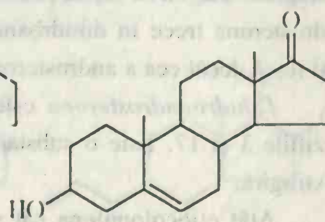
Etiocolan (*cis*)



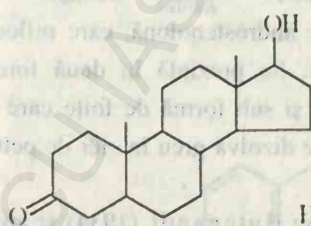
Testosteronă



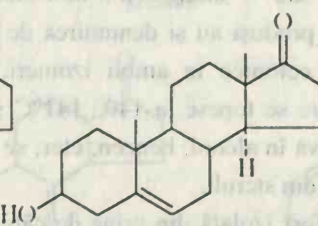
Androsteronă



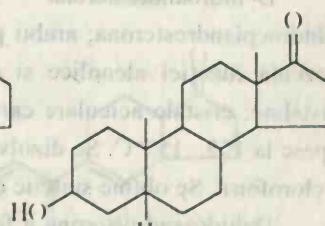
Dehidroandrosteronă



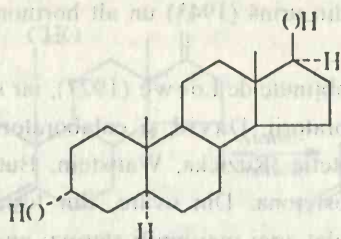
Dihidrotestosteronă



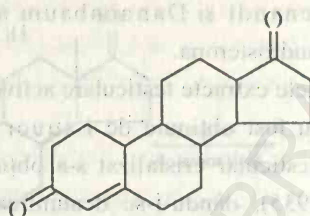
Androstenolonă
(dehidroepiandrosteronă)



Etiocolanolonă



Androstandiol
(dihidroandrosterona)



Androstendionă

Testosterona sau androsten-3-onă-17-ol se consideră hormonul sexual masculin propriu-zis; a fost izolat din testicule de taur (din 100 kg testicule s-au obținut 10 mg produs pur). Se prezintă sub formă de cristale aciculare, cu punctul de topire la 155°C. Este optic-activă. Se dizolvă în alcool, eter, uleiuri vegetale; în apă este insolubilă. Pe cale sintetică se obține din steroli. Se folosește ca medicament în insuficința androgenică, tulburări uterine, cancer mamar. Prin esterificare cu acid acetic sau propionic apar produși cu activitate sporită și de mai lungă durată.

Prin hidrogenarea dublei legături, testosterona trece în dihidrotestosteronă care, probabil, este mai activă și are rol biologic diferit de al testosteronei. Din testosteronă se obțin hormoni estrogeni, ca estronă, extradiol și equilenină.

Androsterona sau androstanol-3-onă-17, izolată din urină, se prezintă sub formă de cristale albe ce se topesc la 185°C. Este optic activă. Se dizolvă puțin în apă, dar este solubilă în dizolvanți organici. Se poate obține sintetic din colesterol. Se folosește ca medicament în tulburări de prostată. Este de 10 ori mai puțin activă decât testosterona. Se consideră un produs de eliminare al hormonilor sexuali masculini.

Androsterona este izomeră cu etiocolanona, aceasta din urmă având activitate biologică cu circa 50% mai mică decât cea a androsteronei. Prin hidrogenare, androsterona trece în dihidroandrosteronă care, de asemenea, are activitate de două ori mai mică decât cea a androsteronei.

Dihidroandrosterona este *androstandiolul*, având cele două grupări alcoolice în pozițiile 3 și 17. Este o substanță solidă care se topește la 221°C; are activitate optică dextrogiră.

Atât etiocolonolona cât și dihidroandrosterona se consideră forme catabolice ale testosteronei, eliminându-se prin urină.

Dehidroandrosterona sau androsten-5-ol-3-onă-17 este izomer cu dehidroepiandrosterona; ambii produși au și denumirea de androstenolonă, care reflectă prezența funcției alcoolice și cetonice în ambii izomeri. Se prezintă în două forme cristaline; cristale aciculare care se topesc la 140...141°C și sub formă de foițe care se topesc la 152...153°C. Se dizolvă în alcool, benzen, eter; se dizolvă greu în eter de petrol și cloroform. Se obține sintetic din steroli.

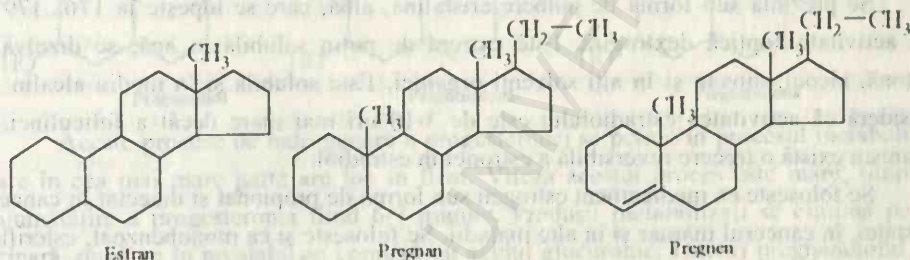
Dehidroandrosterona a fost izolată din urină de către Butenandt (1934) și are o activitate hormonală de două ori mai mică decât a androsteronei.

Androstendiona apare ca produs intermediar în biosinteza testosteronei, ca servind şi la sinteza acesteia, dar care poate fi considerat ca un produs ce rezultă prin dehidrogenarea grupării alcoolice din poziţia 17 a testosteronei.

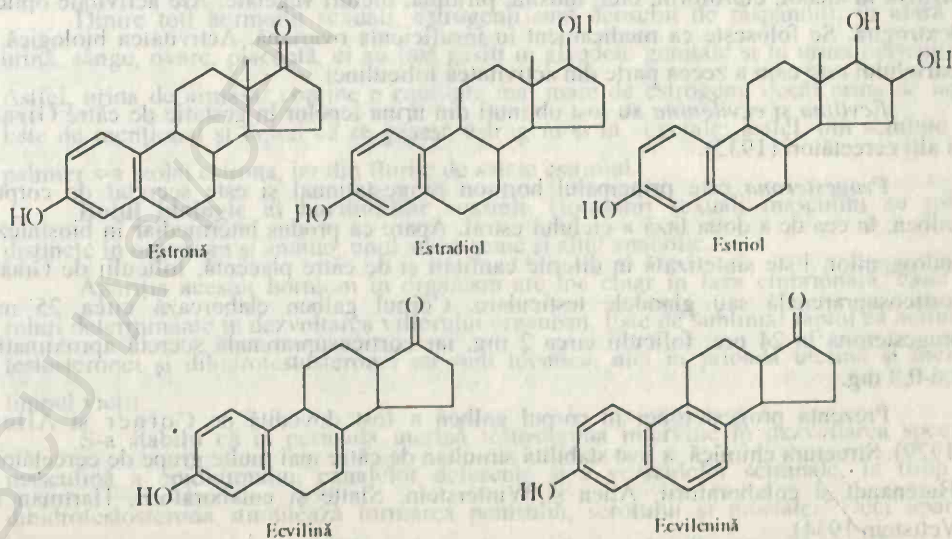
Prin hidrogenarea dublei legături din poziţia 4-5, androstendiona trece în *androstandionă* (androstan-3,17-dionă); este un hormon sexual masculin, obţinut şi sintetic. Se prezintă şi sub formă de cristale ce se topesc la 133°C. Este optic-activ dextrogir. Se dizolvă în alcool, acetonă, hexan. Sintetic se obţine prin oxidarea androsteronei.

Hormonii sexuali feminini se împart în două categorii (având în vedere locul de secreţie şi funcţia biologică): hormoni estrogeni sau foliculari şi hormoni gestogeni sau progestaţionali.

Din punct de vedere chimic estrogenii sunt derivaţi ai hidrocarburii estran, iar hormonii gestogeni sau luteinici se consideră derivaţi ai hidrocarburii saturate pregnan, respectiv ai pregnenului, care are o dublă legătură.



Hormonii feminini estrogeni sunt sintetizaţi în foliculii de Graaf şi au fost izolaţi din urină sau din organele care îi produc. Cei mai importanţi sunt: estrona, estradiolul, estriolul, ecvilina şi ecvilenina. Toţi aceşti compuşi biologic-activi au primul nucleu cu structură aromatică şi o grupare fenolică în poziţia 3, iar în poziţia 17 o grupare cetonică sau alcoolică.



Estrona sau foliculina este primul hormon estrogen cristalizat, izolat din urina de femeie gravidă de către Doisy și colaboratorii și independent de către Butenandt (1929). Denumirea de estronă a fost propusă de comitetul de standardizare a hormonilor sexuali, din Liga Națiunilor (1935). Estrona se folosește ca produs standard pentru a compara activitatea compușilor înrudiți.

Se prezintă sub forma unei pulberi cristaline, albă sau ușor gălbuie. Se topește la 258...262°C. Are activitate optică dextrogiră. Nu are miros. Este foarte puțin solubilă în apă, se dizolvă în alcool la cald, în cloroform, acetonă, dioxan, uleiuri vegetale. Sub formă de propionat se folosește în insuficiența ovariană. Estrona se găsește în urină în parte esterificată cu acid sulfuric. O unitate internațională echivalează cu 0,0001 mg de estronă.

Estradiolul (dihidrofoliculina) a fost obținut prima dată prin reducerea estronei (Gehwenk și Hildebrandt, 1933), iar mai târziu a fost izolat din ovare de scroafă de către MacCorquodale și alții (1935). A fost extras și din urina de iapă gestantă.

Se prezintă sub formă de pulbere cristalină, albă, care se topește la 176...179°C. Are activitate optică dextrogiră. Este extrem de puțin solubilă în apă; se dizolvă în acetonă, alcool, dioxan și în alți solvenți organici. Este solubilă și în mediu alcalin. Se consideră că activitatea estradiolului este de 3-10 ori mai mare decât a foliculinei. În organism există o trecere reversibilă a estronei în estradiol.

Se folosește ca medicament estrogen sub formă de propionat și diacetat în cancerul prostatei, în cancerul mamar și în alte maladii. Se folosește și ca monobenzoat, esterificat la gruparea fenolică.

Estriolul a fost izolat din urina de femeie însărcinată, în mod independent, de către Doisy și Marian (1930). Acest produs poate proveni în urină din foliculină sau din estradiol. Prin deshidratarea în vid a estriolului rezultă estrona.

Este o substanță cristalină care se topește la 282°C. Este insolubil în apă; se dizolvă în alcool, cloroform, eter, dioxan, piridină, uleiuri vegetale. Are activitate optică dextrogiră. Se folosește ca medicament în insuficiența ovariană. Activitatea biologică a estriolului este cam a zecea parte din activitatea foliculinei.

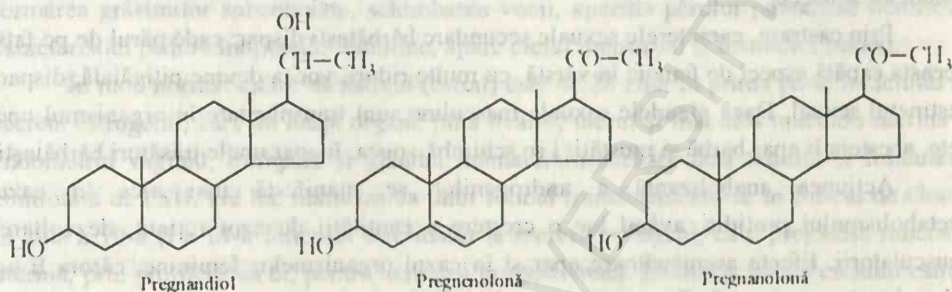
Ecvilina și ecvilenina au fost obținuți din urina iepelor în gestație de către Girad și alți cercetători (1932).

Progesterona este principalul hormon progestațional și este secretat de corpul galben, în cea de a doua fază a ciclului estral. Apare ca produs intermediar în biosinteza androgenilor. Este sintetizată în diferite cantități și de către placentă, foliculii de Graaf, corticosuprarenală sau glandele testiculare. Corpul galben elaborează circa 25 mg progesteronă în 24 ore, foliculii circa 2 mg, iar corticosuprarenala secretă aproximativ 0,6-0,8 mg.

Prezența progesteronei în corpul galben a fost dovedită de Corner și Allen (1929). Structura chimică a fost stabilită simultan de către mai multe grupe de cercetători (Butenandt și colaboratorii, Allen și Winterstein, Slatte și colaboratorii, Hartman și Wettstein 1934).

Sursa naturală cea mai bogată în progesteronă o formează ovarele de scroafă. Din 625 kg ovare colectate de la 50 000 scroafe s-au izolat 20 mg progesteronă pură.

Progesterona se prezintă sub formă de cristale albe, care se topesc la 121°C. Există însă și o a doua formă cristalină care se topește la 128°C (este un produs dimorf). Are activitate optică dextrogiră. Este insolubilă în apă. Se dizolvă în alcool, acetonă și puțin în uleiuri vegetale. Se dizolvă și în acid sulfuric concentrat. Se folosește ca medicament în insuficiența hormonală. Prin reducerea grupărilor cetonice și a dublei legături din poziția 4-5 se transformă în pregnandiol, iar prin reducere parțială se formează pregnenolonă și pregnanolonă:



Pregnandiol Pregnenolonă Pregnanolonă

Aceste procese de hidrogenare a progesteronei se petrec în procesul metabolizării, care în cea mai mare parte are loc în ficat. Viteza acestui proces este mare, timpul de înjumătățire a progesteronei fiind 6-7 minute. Produșii metabolizați se elimină pe cale urinară, după ce în prealabil se conjugă cu acidul glucuronic. Uneori pregnandiolul, care reprezintă produsul principal de eliminare, se hidrolizează la atomul de carbon, trecând în pregnantriol.

Din categoria hormonilor progestaționali mai fac parte: 16-hidroxiprogesterona, 17-hidroxiprogesterona și 11-17-dihidroxiprogesterona. Proprietățile hormonale ale acestor produși sunt foarte scăzute.

Dintre toți hormonii sexuali, estrogenii sunt deosebit de răspândiți; în afară de urină, sânge, ovare, placentă, ei au fost găsiți în glandele genitale și în urina masculilor. Astfel, urina de armăsar conține o cantitate mai mare de estrogeni, decât urina de iapă. Este de menționat și faptul că se găsesc estrogeni și în vegetale; astfel, din semințe de palmier s-a izolat estrona, iar din florile de salcie estriolul.

Rolul biologic al hormonilor sexuali. Hormonii sexuali masculini au roluri distincte în organism și anume: unul androgenic și altul anabolic.

Apariția acestor hormoni în organism are loc chiar în faza embrionară, când au roluri determinante în dezvoltarea viitorului organism. Este de subliniat faptul că acțiunea testosteronei și dihidrotestosteronei nu sunt identice, nici în prioada uterină și nici în timpul vieții.

S-a stabilit că în perioada uterină testosterona intervine în dezvoltarea specific masculină a epididimului, canalelor deferente și a veziculelor seminale, în timp ce dihidrotestosterona stimulează formarea penisului, scrotului și prostatei. Deci apariția caracterelor sexuale primare și dezvoltarea lor se găsesc sub influența androgenilor.

În perioada creşterii, hormonii androgeni sunt secretaţi în corpul băieţilor la vârsta de 14-15 ani şi determină apariţia caracterelor sexuale secundare masculine: pilozitatea (apariţia părului în anumite regiuni de pe suprafaţa corpului), schimbarea vocii, instalarea instinctului sexual (libidoul), apariţia unor caractere psihice bărbăteşti. Androgenii intervin şi în procesul de spermatogeneză, având rol deosebit în formarea compoziţiei plasmei seminale, crescându-i conţinutul în acid citric, fructoză, fosfataze etc.

Şi în această fază se consideră că testosterona stimulează procesul de spermatogeneză, dezvoltarea veziculelor seminale, laringelui, a muşchilor scheletici; dihidrotestosteronul stimulează apariţia pilozităţii, dezvoltarea prostatei, scrotului şi a glandelor sebacee.

Prin castrare, caracterele sexuale secundare bărbăteşti dispar: cade părul de pe faţă, aceasta capătă aspect de femeie în vârstă, cu multe riduri, vocea devine piţigăiată, dispare instinctul sexual. Dacă glandele sexuale masculine sunt transplantate în organismul unei fete, acesteia îi apar barbă şi mustăţi, i se schimbă vocea, îi apar unele trăsături bărbăteşti.

Acţiunea anabolizantă a androgenilor se manifestă mai ales în cazul metabolismului protidic, având loc o creştere a cantităţii de azot reţinut, dezvoltarea musculatorii. Efecte asemănătoare apar şi în cazul organismelor feminine, cărora li s-a administrat testosteronă. Concomitent cu dezvoltarea musculaturii, la tineret se dezvoltă şi scheletul, androgenii favorizând sinteza proteinelor osoase.

Sinteza proteinelor celulare este stimulată de androgeni prin acţiunea lor asupra ADN-ului din cromozomi; este stimulată ARN-polimeraza şi formarea ARN-ului, ca sediu al procesului de proteinoneogeneză. Acest proces explică creşterea musculaturii, o dată cu apariţia hormonilor sexuali în faza pubertăţii, când apare şi virilitatea. Apare şi creşterea oaselor în lungime, care după un proces de îngroşare încetează să se mai alungească, deoarece se osifică cartilagiul de creştere.

S-a constatat că după castrare scade încorporarea aminoacizilor în proteine la nivelul ribozomilor, dar prin administrare de hormoni androgeni, creşte această încorporare.

Acţiunea anabolizantă în metabolismul protidic se manifestă prin stimularea activităţii enzimelor implicate în acest proces. Testosterona determină creşterea activităţii aminoacidoxidazelor, peptidazelor, aminotransferazelor, arginazei; este stimulat şi transportul aminoacizilor prin membranele celulare.

S-a pus în evidenţă faptul că testosterona induce sinteza unor enzime, de exemplu a β-glucuronidazei la nivelul rinichiului, a lactatdehidrogenazei la nivelul veziculei seminale la şobolanii tineri (Kaplan 1965).

Androgenii reglează biosinteza ADN-ului, ARN-ului şi a proteinelor la nivelul organelor sexuale, stimulând şi diviziunea celulară. Acţiunea anabolizantă proteică are loc şi în rinichi şi în ficat, pusă în evidenţă prin creşterea conţinutului în azot.

Concomitent cu acţiunea asupra metabolismului proteic, testosterona determină reţinerea temporară a potasiului, sodiului, fosforului, sulfului şi apei. Administrarea de

cantităţi mai mari de testosteronă duce la creşterea metabolismului bazal şi a numărului de hematii.

Testosterona are influenţă şi asupra permeabilităţii membranelor celulare, activităţii unor enzime, intervine şi în procese oxidoreducătoare prin proprietatea grupării cetonice de a trece în grupare hidroxilică şi, invers, prin acceptare şi cedare de hidrogen.

Hormonii sexuali feminini sunt secretaţi de ovare sub infleunţa hormonilor hipofizari (FSH şi LH) la vârsta de 11-14 ani, când începe pubertatea fetelor. Apariţia acestor hormoni determină dezvoltarea caracterelor sexuale secundare feminine şi anume: dezvoltarea şi maturizarea organismului, dezvoltarea glandelor mamelare şi a mamelelor, formarea grăsimilor subcutanate, schimbarea vocii, apariţia părului pubial; se manifestă caracteristici psiho-emoţionale feminine, apare ciclul menstrual şi instinctul sexual.

În mod normal ciclul menstrual (estral) este de 28 zile. În prima parte a ciclului se secretă estrogenii, care au drept organe ţintă ovarul, uterul şi mai ales mucoasa uterină şi endometrul vaginal, trompele şi glandel mamare. În această fază numită şi foliculară, controlată de FSH, are loc maturizarea unui folicul transformându-se în folicul de Graaf. În ziua a 10-a şi a 14-a foliculul este matur şi secretă estrogeni, care pregătesc mucoasa uterină, prin proliferarea ei, pentru acţiunea progesteronei. În ziua a 14-a a ciclului estral, sub influenţa LH-ului hipofizar are loc ovulaţia (foliculul fiind rupt), iar ovulul expulzat se îndreaptă spre trompe şi uter. În acastă perioadă, în prezenţa spermatozoizilor, ovulul poate fi fecundat şi se va transforma în embrion. După ziua a 14-a apare faza luteală a ciclului, când foliculul rupt, sub influenţa LH-ului hipofizar, se transformă în corpul galben. Acesta secretă progesteronă, care va pregăti mucoasa uterină, determinându-i apariţia unei forme dantelate, propice nidării. Dacă a avut loc fecundaţia, progesterona este secrtată în cantitate mai mare, exercită un efect de relaxare a muşchiului uterin, contracţiile acestuia dispar şi concomitent este stimulată biosinteza unor proteine specifice, care vor favoriza condiţii prielnice dezvoltării embrionului. În luna a 3-a sau a 4-a a sarcinii, rolul de a secreta hormoni este preluat de placentă, iar corpul galben regresează. Placenta secretă ambele categorii de hormoni: secreţia se intensifică în luna a 5-a, ceea ce duce şi la eliminarea hormonilor prin urină. Spre sfârşitul perioadei de sarcină, progesterona stimulează dezvoltarea glandelor mamare, a acinilor mamari, a sânilor şi lactogeneza.

Dacă nu a avut loc fecundaţia ovulului, corpul galben începe să regreseze, apar procese de luteoliză, secreţia de progestronă încetează, apar spasme ale vaselor din mucoasa uterină, endometrul se necrozează şi, la un interval de 28 zile, apar zone hemoragice care constituie menstruaţia. În perioada menstruaţiei, care poate dura şi cinci zile, femeia trebuie să evite eforturile, spre a nu amplifica pierderile de sânge, care nu coagulează. În perioada menstruaţiei scade concentraţia sanguină a hormonilor sexuali feminini. O dată cu încetarea menstruaţiei, ciclul estral reîncepe.

Hormonii estrogeni au şi implicaţii metabolice. S-a pus în evidenţă că injectarea de estrogeni stimulează sinteza de gliceride şi fosfolipide în organismul păsărilor. Favorizează reţinerea apei, clorurii de sodiu, a ionilor de calciu şi determină eliminarea ionilor de potasiu care, sub influenţa lor, ies din celule; creşte concentraţia fosfaţilor în

sânge şi încorporarea lor în ţesutul osos. Estrogenii au acţiune lipotropă, scăzând cantitatea de grăsimi din ficat; o activitate mai ridicată în acest sens o au unii derivaţi ai estradiolului (Milcu, 1967). La om, estrogenii au şi proprietatea de a reduce concentraţia de colesterol şi a fosfolipidelor circulante.

Intervin în biosinteza proteinelor la nivelul uterului, prin stimularea sintezei ARN-ului.

Estradiolul stimulează biosinteza unor fosfoproteide specifice, bogate în serină, în corpul unor animale.

Şi progesterona este implicată în biosinteza proteinelor intervenind şi în metabolismul hidromineral; are rol deosebit în metabolismul galactozei, stimulând formarea ei. S-a pus în evidenţă faptul că sinteza proteinelor din albuşul de ou se găseşte şi sub influenţa progesteronei; acest hormon induce sinteza avidinei.

Reglarea secreţiei de hormoni sexuali. Secreţia hormonilor sexuali, atât androgeni cât şi estrogeni, şi pregestaţionali se găseşte sub controlul complexului hipotalamo-hipofizar, prin acţiunea hormonilor specifici ai acestui complex.

Astfel, biosinteza testosteronei este stimulată de hormonii hipofizari FSH şi ICSH prin acţiunea lor asupra activităţii celulelor Leydig; secreţia acestor hormoni hipofizari este dirijată de factorii stimulatori specifici hipotalamici. Perturbarea secreţiilor hipofizare se reflectă asupra funcţionării glandelor testiculare, putând determina insuficienţa acestora; în mod deosebit lipsa ICSH-ului determină perturbarea secreţiei androgenilor. Insuficienţa testiculară apare destul de rar.

Deoarece în perioada menstruaţiei scade concentraţia sanguină în hormoni sexuali feminini, are loc stimularea secreţiei de FSH şi LH prin intermediul hipotalamusului. Prin acţiunea sinergică a FSH-ului şi LH-ului are loc maturarea foliculului ovarian, apariţia foliculului de Graaf şi stimularea funcţiei acestuia, adică sinteza şi secreţia de estrogeni. Concentraţia crescută de estrogeni poate interveni prin conexiune inversă asupra procesului de secreţie a hormonilor hipofizari şi factorilor stimulatori hipotalamici (acţiune de feed-back negativ), inhibând aceste secreţii.

Cu puţin timp înainte de ovulaţie, începe secreţia de progesteronă care, în condiţiile secreţiei scăzute a hipotalamusului, favorizează secreţia acestuia, determinând intensificarea secreţiei de LH hipofizar. LH-ul determină apariţia ovulaţiei şi formarea corpului galben şi deci secreţia de progesteronă se amplifică. Creşterea concentraţiei de progesteronă, prin conexiune inversă, în mod direct sau prin intermediul hipotalamusului, determină scăderea secreţiei de FSH şi LH. Dacă fecundaţia nu a avut loc, va apărea menstruaţia şi reducerea concentraţiei de hormoni sexuali feminini din sânge. Dacă a avut loc fecundaţia şi nidarea, continuă secreţia de progesteronă, cu rol important în menţinerea sarcinii. Scăderea secreţiei de progesteronă poate determina apariţia avortului.

4 HORMONI TISULARI

4.1. Aspecte generale

Hormonii tisulari numiți hormoni locali sunt compuși organici biologic-activi elaborați de către diferite organe și țesuturi, exceptând glandele endocrine, care își manifestă acțiunea biologică în imediata apropiere a locului de secreției. Acești hormoni nu sunt elaborați de organe specializate, ci de o serie de celule neuroglandulare, care au proprietatea de a reține și transforma biochimic o serie de compuși, precursori ai unor amine, în peptide cu activitate biologică specifică. Aceste celule, în interiorul cărora au loc și reacții de decarboxilare, formează un sistem celular numit paracrin sau APUD (amine precurser uptake and decarboxilation). Celulele APUD se găsesc răspândite în multe organe și țesuturi și anume: plămâni, pancreas, tiroidă, paratiroide, piele, căi urogenitale, formațiuni nervoase, epiteliu gastrointestinal etc.

Hormonii tisulari se diferențiază de hormonii endocrini și prin faptul că ei nu pătrund în circuitul sanguin, ci sunt deversați în jurul celulelor care îi elaborează și intervin asupra activității organelor în care s-au format.

Se cunosc mulți compuși chimici biologic-activi, care apar în organismul animal, uneori în procesele metabolice intermediare sau prin procese specifice de biosinteză. Cercetările în biochimie și cele în disciplinele înrudite pun în evidență noi produși biologic-activi din categoria hormonilor tisulari, încât numărul lor este într-o creștere continuă. Fiind numeroși și având activități biologice diferite, o clasificare riguroasă, după un anumit criteriu științific, este dificilă. Deși se cunosc hormoni tisulari a căror structură chimică nu este pe deplin elucidată, totuși singurul criteriu de clasificare a lor este până în prezent structura chimică. După structura lor chimică, hormonii tisulari aparțin aminelor, peptidelor, acizilor grași ciclici nesaturați și altor categorii de compuși.

4.2. Hormoni tisulari aminici

Substanțele biologic-active din această categorie conțin în molecula lor o grupare aminică liberă sau cu atomii de hidrogen legați de azot sunstituiți prin radicali metilici. Având în vedere faptul că acești compuși apar în organism pe cale biochimică și conțin o singură grupare aminică, sunt denumiți și prin termenul de *monoamine biogene.*

Reprezentanţii cei mai importanţi sunt: histamina, serotonina, tiramina, acetilcolina, acidul γ-aminobutiric şi alţii.

4.2.1. Histamina

Histamina face parte din derivaţii naturali ai imidazolului şi se găseşte în multe ţesuturi animale, în cantităţi mai mari fiind în ficat, tubul digestiv, plămâni, piele şi mucoase. Se găseşte şi în unele lichide biologice ca: sânge, limfă, salivă, bilă, suc gastric, urină.

În organism histamina rezultă prin decarboxilarea histidinei, reacţie catalizată de histidindecarboxilază, enzimă care îşi are drept coenzimă piridoxalfosfatul:

$$\underset{\text{Histidina}}{C_3H_3N_2(H)-CH_2-CH(COOH)-NH_2} \xrightarrow{-CO_2} \underset{\text{Histamina}}{C_3H_3N_2(H)-CH_2-CH_2-NH_2}$$

Formarea histaminei din histidină a fost demonstrată prin cercetări efectuate cu molecule de histidină cu ^{14}C, de către Schlayer (1952).

Din punct de vedere chimic histamina este 4-imidazoliletilamină sau β-aminoetil-imidazol; se mai numeşte şi ergamină.

A fost izolată pentru prima dată (1910) din cornul de secară şi apoi din ficat, plămâni, muşchi, splină. Este o substanţă cristalină, se topeşte la 83...84°C, se dizolvă în apă, alcool şi în cloroform cald; este puţin solubilă în eter.

În ţesuturi, histamina se găseşte în cea mai mare parte legată, când nu-şi manifestă proprietăţile biologice. Se apreciază că histamina poate fi legată electrovalent prin grupări carboxilice libere ale unor proteine, sau formează baze Schiff cu grupările aldehidice, cum sunt cele din piridoxalfosfat. În medii acide aceste baze Schiff eliberează histamina prin hidroliză.

Rolul biologic al histaminei. În cantităţi deosebit de mici histamina are efecte biologice foarte puternice, care se manifestă la diferite nivele.

La nivelul capilarelor histamina are rol vasodilatator şi deci determină o hipotensiune arterială. Măreşte permeabilitatea membranelor. Ea stimulează muşchii netezi gastrointestinali şi uterini, având efect contractant asupra acestor organe. Histamina are rol stimulator şi asupra unor glande: stimulează secreţia salivară, gastrică, intestinală şi lacrimară; în cantitate mai mare, histamina scade probabil secreţia gastrică şi are acţiune ulceroasă; în acelaşi timp favorizează apariţia catecholaminelor. Activează adenilciclaza membranară şi determină acumularea de AMP-ciclic în celule.

Histamina determină creşterea presiunii arteriale la rozătoare şi produce scăderea acesteia la carnivore. Are acţiune şi asupra glandei medulo-suprarenală, stimulând secreţia de adrenalină şi noradrenalină. Introdusă sub formă de injecţii, intensifică secreţia adenohipofizară de ACTH.

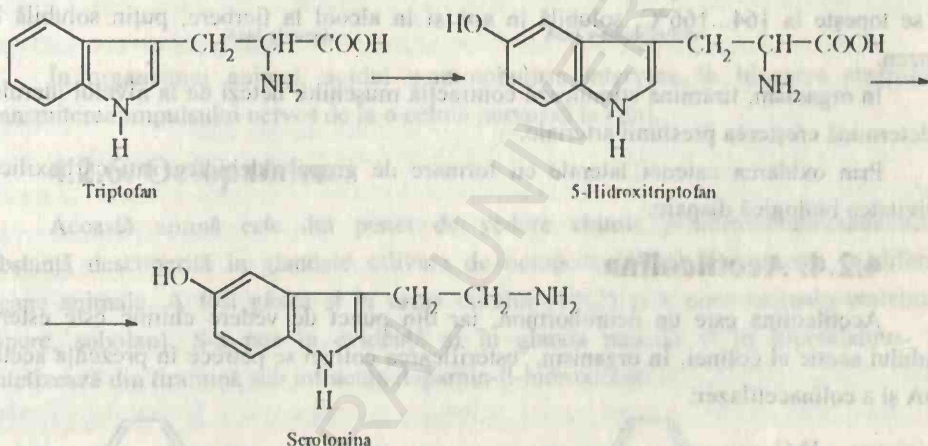
Dacă histamina apare în cantitate mare, determină apariţia unor stări patologice. Metilată sau dezaminată pe cale oxidativă, îşi pierde activitatea biologică.

În tehnică, histamina se prepară prin decarboxilarea biochimică a histidinei sau prin tratarea acesteia cu acid sulfuric diluat la 270°C.

4.2.2. Serotonina

Serotonina sau enteramina, din punct de vedere chimic 5-hidroxitriptamină, este produsul biologic-activ, izolat din sângele de bou (1948) de către Rapaport, Green şi Page.

Serotonina se formează din triptofan care, în prezenţa oxigenului şi a triptofanhidroxilazei, este transformată în 5-hidroxitriptofan, produs care apoi este decarboxilat sub acţiunea enzimei 5-hidroxitriptofandecarboxilaza, rezultând 5-hidroxitriptamina, după schema:



Triptofan

5-Hidroxitriptofan

Serotonina

Se poate obţine şi sintetic prin mai multe metode.

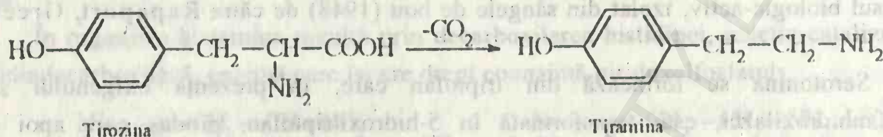
Serotonina, sub formă cristalină, are culoare galben-brună şi se topeşte la 209...212°C. Este răspândită în regnul vegetal şi animal. În cantitate mai mare se găseşte în mucoasele gastrointestinale, apoi în plachetele sanguine, în ficat, splină, glanda tiroidă, creier şi în alte ţesuturi. În stare stocată, serotonina este legată de unele proteine, care împiedică degradarea ei oxidativă la 5-hidroxiindolacetaldehidă şi la acidul 5-hidroxiindelacetic, aceştia fiind produşi catabolici ai serotoninei. Prezenţa cationilor de calciu favorizează eliberarea acestui produs biologic-activ.

Rolul biologic al serotoninei. Serotonina îndeplineşte multiple roluri în diverse regiuni ale organismului. Proprietăţile sale vasoconstrictive sunt cunoscute de multă vreme; acestea se manifestă la nivelul vaselor renale, uterului, placentei, dar pentru arterele musculare şi de la nivelul pielii are proprietăţi vasodilatatoare. Serotonina joacă rol important în procesul de hemostază, prin proprietăţile sale vasoconstrictoare, obturând leziunile ţesuturilor vii. Determină excitarea mişcării peristaltice la nivelul intestinului şi accelerează mişcarea cardiacă. Intervine în activitatea cerebrală, în trasmisia impulsului nervos central, în geneza somnului.

Serotonina influenţează şi procesele metabolice, având acţiune lipolitică, glicogenolitică şi hiperglicemiantă. Apare în glanda pineală ca un intermediar în sinteza melatoninei (vezi subcap. 3.2.7.).

4.2.3. Tiramina

Tiramina este o amină ce apare atât *in vivo*, cât şi *in vitro* prin decarboxilarea tirozinei:



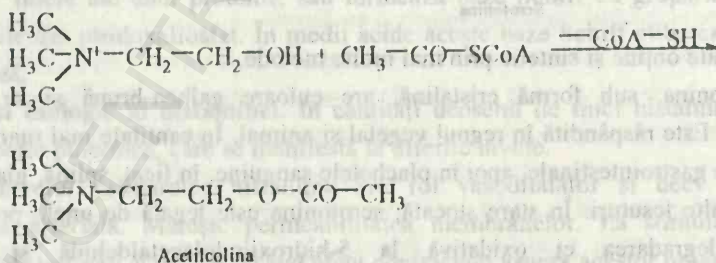
Din punct de vedere chimic, tiramina este deci *p*-hidroxifeniletilamina şi se găseşte în toate organismele animale. Se găseşte şi în cornul de secară. Este o substanţă cristalină ce se topeşte la 164...166°C, solubilă în apă şi în alcool la fierbere, puţin solubilă în benzen.

În organism, tiramina stimulează contracţia muşchilor netezi de la nivelul uterului şi determină creşterea presiunii arteriale.

Prin oxidarea catenei laterale cu formare de grupe aldehidice sau carboxilice, activitatea biologică dispare.

4.2.4. Acetilcolina

Acetilcolina este un neurohormon, iar din punct de vedere chimic este esterul acidului acetic al colinei. În organism, esterificarea colinei se petrece în prezenţa acetil-CoA şi a colinacetilazei:



Acetilcolina a fost izolată din cornul secarei de către Ewins (1914) şi din splina de cal de către Dale şi Dudley (1929).

Sub formă de săruri (halogenuri de acetilcolină), substanţa este solubilă în apă, alcool şi este insolubilă în eter. În organism, acetilcolina este legată de o proteină, ceea ce o face stabilă la acţiunea esterazelor care, altfel, ar hidroliza-o.

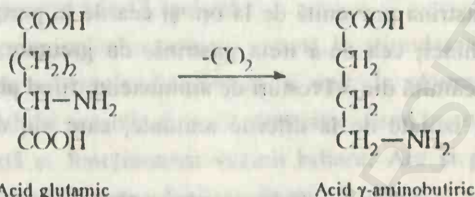
În organism, acetilcolina joacă rol în trasmiterea impulsurilor nervoase; atunci când un impuls străbate un nerv al sistemului nervos parasimpatic, la marginea sa apare acetilcolina, care transmite impulsul mai departe muşchiului. Datorită prezenţei colinesterazei, acest efect dispare repede, deoarece acetilcolina este repede hidrolizată în acid acetic şi colină. Acetilcolina stimulează acţiunea pepsinei şi eliberarea gastrinei.

Injectată în organism acetilcolina produce vasodilatarea capilarelor sanguine şi prin aceasta scade tensiunea arterială; în acelaşi timp încetineşte bătăile inimii şi stimulează mişcările peristaltice ale intestinului.

4.2.5. Acidul γ-aminobutiric

În stare liberă, acidul γ-aminobutiric este destul de răspândit în natură; sub formă combinată cu proteine a fost găsit în mazăre.

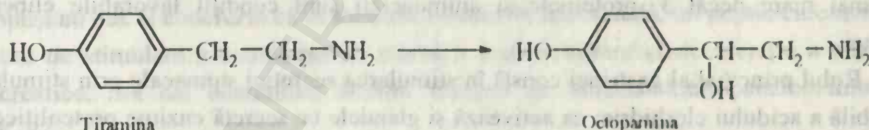
În organismele animale, mai ales la nivelul creierului, se formează prin decarboxilarea acidului glutamic, în prezenţa unei decarboxilaze:



În organismul animal, acidul γ-aminobutiric intervine în blocarea sinapselor (transmiterea impulsului nervos de la o celulă nervoasă la alta).

4.2.6. Octopamina

Această amină este din punct de vedere chimic *p*-hidroxifeniletanolamina, substanţă descoperită în glandele salivare de octopede (1951). Se găseşte în diferite organe animale. A fost găsită şi în urina omului (1962) şi a unor animale vertebrate (iepure, şobolan). S-a pus în evidenţă şi în glanda pineală şi în hipotalamus. Se sintetizează din tiramină sub influenţa dopamin-β-hidroxilazei:



Activitatea biologică a acestei substanţe nu este prea bine elucidată; se consideră că are rol indirect în unele proces chimice, fiind un activator al adenilciclazei.

4.3. Hormoni tisulari peptidici

Se cunoaşte un număr mare de compuşi biologic-activi cu structură peptidică, care îşi manifestă acţiunea la nivelul diferitelor organe. Dintre reprezentanţii mai importanţi fac parte hormonii tisulari gastrointestinali, hormonii renali, kininele plasmatice etc.

4.3.1. Hormoni tisulari gastrointestinali

Numărul compuşilor cu activitate biologică care apar în tractusul digestiv este deosebit de mare. Unii dintre ei se cunosc de mai mult timp şi li s-a stabilit şi structura

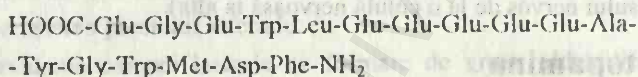
chimică, alţii însă sunt în curs de cercetare. Cei mai importanţi şi mai cunoscuţi se expun foarte succint în continuare.

Gastrina. A fost găsită în mucoasa pilorică de porc (1906) şi mult mai târziu (1946) cercetări laborioase au dus la izolarea a două peptide foarte apropiate ca structură numite gastrina I şi gastrina II. Ulterior s-a identificat şi o a treia gastrină cu greutate moleculară mai mare (1970).

S-a stabilit că gastrinele I şi II sunt peptide alcătuite din 17 resturi de aminoacizi, deosebirea dintre ele constând în prezenţa tirozinei esterificate cu acid sulfuric în gastrina II, ester ce nu există în gastrina I.

Diferenţa între gastrina provenită de la om şi cea de la porcine constă în prezenţa leucinei în locul metioninei; cea de-a treia gastrină, cu greutate moleculară mai mare (marea gastrină), este alcătuită din 34 resturi de aminoacizi, fiind practic un polipeptid. Se cunosc şi alte gastrine, izolate de la diferite animale, care au, de asemenea, structuri peptidice.

Structura chimică a gastrinei este bine cunoscută; în cazul celei umane, secvenţa aminoacizilor este următoarea:


HOOC-Glu-Gly-Glu-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-

-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH_2

Ultimii patru aminoacizi constituie partea activă a gastrinei.

În cazul gastrinei alcătuiră din 34 resturi de aminoacizi, secvenţa lor este de asemenea cunoscută, iar partea activă este identică celei din gastrina cu 17 aminoacizi.

Gastrina este secretată de mucoasa stomacală din regiunea pilorică, secreţia fiind stimulată de catecholamine, acetilcolină, peptide, cationi de calciu. De asemenea, *p*H-ul acid, mai mare decât 3, proteinele şi aminoacizii sunt condiţii favorabile eliberării gastrinei.

Rolul principal al gastrinei constă în stimularea secreţiei stomacale prin stimularea prealabilă a acidului clorhidric; ea activează şi glandele ce secretă enzime proteolitice, în mod deosebit pepsina. Acţiune de stimulare a secreţiei de către gastrină se manifestă şi la nivelul ficatului şi pancreasului, fiind stimulată însă numai de secreţia de insulină.

Gastrina este implicată şi în creşterea mucoasei gastrice, fiind stimulată biosinteza proteinelor specifice acesteia.

Secretina. A fost semnalată ca substanţă biologic-activă, încă din anul 1902 de către Baylise şi Starling, ca având proprietatea de a stimula secreţia pancreasului exocrin. Este una din primele substanţe cu proprietăţi hormonale.

Secretina este un polipeptid alcătuit din 27 resturi de aminoacizi, primul având o grupare -NH_2 liberă, iar cel din poziţia 27 o grupare -CO-NH_2 liberă. Purificarea secretinei aparţine lui Jarpes şi Mutt (1961), iar mai târziu (1966) aceiaşi autori i-au stabilit şi secvenţa aminoacizilor componenţi. Sinteza ei a fost realizată de Bogdanski (1966), iar fabricarea industrială de Wünsch (1972).

Secretina este elaborată de mucoasa duodenului sub formă de prosecretină care, în prezenţa mediului acid venit o dată cu chimul alimentar din stomac, se eliberează şi

ajunge în capilarele sanguine. Dacă *p*H-ul crește peste 4,5, eliberarea secretinei încetează, concomitent cu încetarea secreției de dicarbonați în duoden. Între eliberarea secretinei, mediul acid și secreția de dicarbonați există o strânsă interdependență; dicarbonații alcalini neutralizează aciditatea, scăzând în consecință și secreția de dicarbonați. Neutralizându-se aciditatea chimului alimentar, este favorizată intervenția enzimelor pancreatice care continuă digestia începută în stomac.

Având în componența sa patru molecule de arginină, una de histidină și o grupare amidică, secretina are un caracter bazic. După unele păreri, activitatea biologică a secretinei se datorează prezenței unei structuri helicoidale a fragmentului peptidic format dintre aminoacizii din poziția 5 la 13 inclusiv.

Rolul biologic principal al secretinei constă în stimularea celulelor pancreasului care au proprietatea de a secreta dicarbonați și apă. În stomac, secretina stimulează secreția de pepsină și inhibă secreția de acid clorhidric, fiind în acest caz un antagonist al gastrinei. Este implicată și funcționarea vezicii biliare. Are și proprietăți glicolitice și lipolitice manifestate prin activarea adenilatciclazei.

Secretina s-a dovedit a fi prezentă la multe mamifere (bovine, ovine, cobai, câine, iepure, pisică, șobolani) precum și la porumbei, pești etc.

Colecistokinin - pancreozimina (CCK-PZ). Pătrunderea în duodem a chimului alimentar bogat în grăsimi și acizi grași stimulează contracția și golirea vezicii biliare. Acest rol a fost atribuit de către Ivy și Oldberg (1928) unui hormon intestinal numit colecistekinină (CCK). S-a constatat pe de altă parte că acest chim alimentar stimulează și secreția enzimelor pancreatice; această proprietate a fost considerată a fi a unui alt hormon numit pancreozimina (PZ).

Cercetările întreprinse de Jarpes, Mutt și Toczk (1964) privind izolarea acestor compuși au dus la concluzia că ei formează o unitate hormonală, un peptid care manifestă acțiuni de stimulare a contracției și relaxării vezicii biliare și de secreție a enzimelor pancreatice. S-a dat denumirea acestui compus de colecistokinin-pancreozimina sau CCK-PZ.

Hormonul CCK-PZ, secretat de mucoasa duodenală, este un polipeptid format de 33 resturi de aminoacizi, a căror secvență a fost stabilită de Mutt și Jarpes (1967). În acest peptid, tirozina se găsește esterificată cu acidul sulfuric (ca în cazul gastrinei II); îndepărtarea acestui ester suprimă proprietățile biologice ale hormonului.

S-a pus în evidență faptul că CCK-PZ este alcătuit din 33 resturi de aminoacizi sau din 39, putând exista și alte structuri ale moleculelor, sau chiar precursori polipeptidici.

În afară de mucoasa intestinală, CCK-PZ a fost găsit și la nivelul creierului. Eliberarea hormonului este stimulată de acizi grași, aminoacizi, lipide emulsionate, polipeptide și de mediul acid. Acizii palmitic, oleic și stearic au puternică acțiune de eliberare a CCK-PZ; efect de stimulare a secreției de CCK-PZ au și cationii Ca^{2+}.

Rolul biologic al CCK-PZ este multiplu. Trebuie subliniat întâi rolul de stimulare a secreției enzimelor pancreatice. Intervine și în secreția hidrică a dicarbonaților pancreatici. Stimulează contracția și relaxarea vecizii biliare, a stomacului, intestinului și

determină relaxarea sfincterului esofagian inferior. Inhibă secreția acidă la nivelul stomacului.

La nivelul glandelor endocrine, CCK-PZ activează secreția de insulină și a calcitoninei tiroidiene.

La nivelul creierului este implicat în reglarea apetitului, iar apariția hormonului în sânge ar indica starea de sațietate.

Este implicat și în eliberarea altor substanțe biologic-active, în afară de hormonii endocrini.

Polipeptidul gastric inhibitor (GIP). Inițialele provin de la denumirea în limba engleză (gastro-inhibiting peptid) a produsului polipeptidic izolat și purificat de Brown și Dryburgh (1971).

GIP este un polipeptid alcătuit din 43 resturi de aminoacizi; 15 din primii 26 au poziții identice ca în structura glucagonului (vezi pag. 206), iar 9 se găsesc și în componența secretinei.

Polipeptidul gastric inhibitor este secretat de anumite celule din mucoasa duodenală, secreția fiind stimulată de glucoză, grăsimi și în general de lipide alimentare; acțiunea stimulantă a acizlor aminici este de importanță minoră. S-a pus în evidență nu numai în organismul omenesc, ci și în cel al câinelui, șobolanului etc. Metabolizarea acestui polipeptid se petrece, în mare parte, la nivelul rinichiului.

Acest hormon gastrointestinal este implicat în multiple acțiuni biologice. În primul rând trebuie subliniată acțiunea lui inhibitoare asupra secreției gastrice și asupra contracției și relaxării la nivelul stomacului (metilitatea gastrică). Cele mai multe acțiuni ale acestui hormon sunt însă stimulative; astfel, stimulează secreția de insulină și glucagon. Stimularea secreției de insulină depinde de glicemie, ceea ce a dus la denumirea GIP-ului de hormon insulinotrop glucozodependent. Astfel, dacă concentrația glucozei în sânge scade sub 1 g/l, acțiunea lui de stimulare a secreției insulinei nu se manifestă.

GIP-ul stimulează și secreția intestinală.

Polipeptidul vasoactiv intestinal (vasoactive intestinal peptid). Este cunoscut și sub numele, abreviat, de VIP. A fost izolat din mucoasa intestinului subțire de porcine de către Said și Mutt (1970). Este un polipeptid care apare pe întreg tractusul digestiv, de la nivelul esofagului la colon, dar și la alte organe ca pancreasul și în țesutul nervos cerebral, în placentă și formațiuni nervoase genitale externe.

Din punct de vedere chimic, VIP este un polipeptid alcătuit din 28 resturi de aminoacizi, a căror secvență a fost determinată la Said și Mutt (1974), iar sinteza lui a fost realizată de către Bodanski în același an.

Eliberarea VIP-ului este favorizată, printre altele, și de următoarele substanțe: acid clorhidric, alcool, grăsimi etc. S-a dovedit prezența lui și în organismul altor mamifere, în afară de cel uman.

Activitatea biologică a acestui hormon se manifestă prin acțiuni vasodilatatoare la nivelul foiței mezenterice, al plămânilor și vaselor coronariene; crește debitul cardiac. Este implicat în motilitatea digestivă. Relaxează mușchiul traheal și bronșic. Are

proprietăţi antihistaminice. Stimulează secreţia biliară şi pancreatică, precum şi concentraţia acestora în dicarbonaţi. Activează secreţia unor enzime pancreatice, precum sunt: amilaza, lipaza, tripsina.

VIP este implicat şi în procesele metabolice; în mod indirect, prin stimularea creşterii secreţiei de insulină şi glucagon, intervine în reglarea metabolismului glucidic. Activează adenilatciclaza şi creşte conţinutul în AMP-ciclic (Deschodt, 1977 şi Frandsen, 1978). Este implicat şi în procese lipolitice.

VIP inhibă secreţia gastrică stimulată de gastrină şi stimulează secreţia de pepsină. Prezintă probabil şi implicaţii de neurotrasmiţător.

Enteroglucagonul. Este un polipeptid cu proprietăţi asemănătoare glucagonului pancreatic, care este însă secretat de mucoasa gastroduodenală. Prezenţa lui a fost constatată de Unger şi colaboratorii (1961). Ulterior s-a identificat şi alt peptid cu activitate glucagonică, izolat din extracte ale intestinului subţire de porcine, format din 100 resturi de aminoacizi, căruia i-a dat numele de glicetin. Acest polipeptid s-a dovedit a fi un precursor al glucagonului, atât al celui pancreatic, cât şi al celui intestinal. În componenţa acestuia se găsesc şi fragmente ale altor peptide intestinale.

S-a pus în evidenţă faptul că enteroglucagonul are o structură chimică foarte apropiată de a glucagonului extras de la porcine, având o catenă polipeptidică formată din 29 resturi de aminoacizi (Sundler şi colaboratorii, 1976).

Enteroglucagonul este secretat de mucoasa duodenală, dar şi de anumite regiuni ale stomacului. Secreţia de enteroglucagon este stimulată de prezenţa glucozei şi a grăsimilor obişnuite.

Enteroglucagonul intervine în procesele metabolice, stimulând glicogenoliza, gluconeogeneza, lipoliza şi cetogeneza. Stimulează şi secreţia de insulină. Inhibă motilitatea intestinală şi absorbţia apei şi a electroliţilor de către acest organ. De asemenea, are proprietatea de a inhiba secreţia enzimelor pancreatice, secreţia gastrică şi stimulează evacuarea veziciii biliare. S-a pus în evidenţă stimularea secreţiei de insulină de către pancreasul caninelor.

Somatostatinul. Este un polipeptid izolat din hipotalamusul de ovine şi porcine de către Schally şi colaboratorii (1978). Prezenţa sa a fost constatată la nivelul mai multor organe: stomac, duoden, tiroidă, pancreas, glande salivare etc.

S-a constatat că mărimea acestui polipeptid este în funcţie de organul care îl generează; astfel, somatostatinul intestinal este alcătuit din 28 resturi de aminoacizi, iar cel hipotalamic din 14.

Somatostatinul intestinal este secretat de anumite celule răspândite în întreaga mucoasă gastrointestinală, de la stomac la colon. Aceste celule sunt însă mai aglomerate la nivelul stomacului şi duodenului. Formarea şi secreţia acestui hormon la nivelul stomacului este influenţată de prezenţa acidului clorhidric. Apariţia somatostatinului inhibă însă secreţia de gastrină şi de acid clorhidric în sucul gastric. Lipidele, proteinele şi glucoza determină eliberarea somatostatinului.

În afară de inhibarea secreţiei de gastrină şi acid clorhidric, somatostatinul manifestă şi alte roluri biologice importante: trebuie menţionată proprietatea acestui

produs biologic-activ de a întârzia sau inhiba evacuarea gastrică prin inhibarea secreției de motilin. Inhibă, de asemenea, secreția de insulină și glucagon, diminuează secreția de apă și enzime pancreatice, dar nu influențează secreția dicarbonaților pancreatici.

Somatostatinul inhibă contracția vezicii biliare și absorbția aminoacizilor. Este implicat și în acțiuni endocrine, inhibând eliberarea hormonilor adenohipofizari: STH; FSH; TSH.

Are utilizări terapuetice; se folosește în tratarea diabetului zaharat, a pancreatitei cronice, ulcerului gastroduodenal.

Motilinul. Este un polipeptid extras din mucoasa duodenală de către Brown și colaboratorii (1971); secvența aminoacizilor a fost stabilită de același autor în 1972.

Acest polipeptid este alcătuit din 22 resturi de aminoacizi și este eliberat de celule cromafine ale mucoasei duodenale.

Activitatea biologică a acestui polipeptid constă în stimularea activității gastrice, secreției de pepsină, dar nu stimulează secreția de acid. De asemenea, metilinul determină contracția stomacului animalelor flămânde. Această proprietate de stimulare a motilității gastrice este de 50 ori mai puternică decât în cazul acetilcolinei. Se apreciază că motilinul corectează alcalinitatea chimului alimentar venit din stomac în duoden; dacă aici alcalinitatea este prea ridicată, motilinul dirijează astfel motilitatea gastrointestinală, încât se introduce în duoden o nouă cantitate de chim stomacal cu caracter acid, spre a corecta *p*H-ul, făcându-l propriu acțiunii enzimelor pancreatice.

Prezența motilinului s-a semnalat și la nivelul hipofizei, epifizei, hipotalamusului etc.

Bombezina. Este un polipeptid izolat întâi din pielea de broască; ulterior s-au izolat alte polipeptide similare din pielea altor specii de amfibieni. Toate aceste polipeptide au o proprietate biologică comună și anume stimularea motilității gastrointestinale.

Din mucoasa gastrointestinală a mamiferelor s-a izolat un polipeptid, format din 27 resturi de aminoacizi, avându-i pe primii 9 identici cu cei din componența bombezinei. Acest polipeptid are proprietatea de a stimula elaborarea de gastrină. Polipeptide de tipul bombezinei s-au pus în evidență în creierul și stomacul mai multor specii de amfibieni, în esofagul și creierul păsărilor, șobolanilor, dar și în mucoasa gastrointestinală a omului. Bombezina s-a identificat și la nivelul hipotalamusului.

În organismul omenesc, bombezina stimulează puternic secreția gastrică, aceeași acțiune manifestându-se la câine și pisică.

Bombezina stimulează secreția enzimelor pancreatice, procesul de contracție a vezicii biliare. Ea diminuează motilitatea gastrică, activează eliberarea de insulină și glucagon; este implicată în antidiureză.

La unele animale, bombezina determină hipertensiune arterială, aspect care pentru organismul omenesc este minor. Proprietățile acestui polipeptid nu sunt încă pe deplin elucidate.

Urogastrona. A fost izolată din urina umană (1975) şi este un polipeptid compus din 53 resturi de aminoacizi. Polipeptide asemănătoare urogastronei au fost identificate şi în plasma sanguină a omului, în salivă, în sucul gastric şi în lapte.

Celulele secretoare de urogastronă se găsesc în glandele submaxilare şi în anumite glande duodenale.

Cea mai importantă acţiune biologică a urogastronei constă în inhibiţia secreţiei gastrice acide, stimularea captării de aminoacizi şi a sintezi de proteine.

Urograstrona intervine în vindecarea mai rapidă a ulcerului duodenal şi previne apariţia lui. Este implicată în dezvoltarea celulelor epiteliale, ceea ce ar explica proprietăţile antiulceroase.

Din categoria hormonilor tisulari gastrointestinali fac parte şi alte substanţe polipeptidice care au rol în reglarea nutriţiei organismului.

Enkefalinele. Identificate în stomac şi duoden, intervin ca inhibitori ai motilităţii intestinale şi ai secreţiei pancreatice. În reglarea funcţiei tractusului digestiv intervine şi **substanţa P**, care stimulează şi fluxul salivar.

Polipeptidul pancreatic (PP). Izolat din pancreasul păsărilor (1975) şi din cel al mamiferelor (1977), este un polipeptid alcătuit din 36 resturi de aminoacizi, care stimulează secreţia sucului pancreatic, scade conţinutul de bilirubină din sucul duodenal şi creşte motilitatea intestinală.

Se cunosc şi alte substanţe biologic-active, cu structură peptidică, existente în mucoasa duodenală, implicate în procesele de secreţie gastrointestinală.

4.3.2. Hormoni tisulari renali

Rinichiul este organul principal al aparatului urinar şi are rol vital pentru organismul animal. La nivelul rinichiului se petrec multe procese biochimice. În acest organ, în celule specializate, se formează şi câteva substanţe biologic-active, dintre care mai importante sunt: renina, eritropoetina, kininele renale, prostaglandinele şi altele.

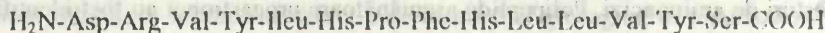
Renina. Este o enzimă proteolitică cu structură glucoproteidică sintetizată de către anumite celule din componenţa rinichiului. Prezenţa ei a fost semnalată de Tigersted şi Bergman (1898). Se cunosc mai multe renine, extrase de la diverse animale, care se diferenţiază prin greutatea lor moleculară. Warren şi Dolinsky au arătat că renina umană are greutatea moleculară de aproximativ 43 000.

În forma sa inactivă, renina este legată de o proteină, dar în mediu acid ($pH = 2,5$) şi la temperatura de 4°C, după câteva ore de păstrare în aceste condiţii, proteina se inactivează eliberându-se renina, care devine activă.

Experimental s-a demonstrat că reninele iau naştere şi în alte organe, afară de rinichi, de exemplu în uter, placentă, creier, glande (suprarenale, epifiză, hipofiză, submaxilare), lichid amniotic, limfă, miocard etc. Aceste enzime extrarenale se numesc izorenine. Ele au fost puse în evidenţă la diferite animale: câini, oi, iepuri, şobolani.

Renina, în prezenţa tripsinei, acţionează asupra unei proteine plasmatice ce face parte din categoria α-globulinelor, care se transformă într-un tetradecapeptid numit angiotensinogen. Acest angiotensinogen devine substrat pentru renină.

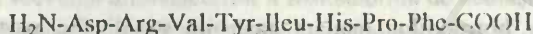
Structura chimică a angiotensinogenului este următoarea:



H_2N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser-COOH

Sub acţiunea reninei, angiotensinogenul se transformă într-un decapeptid numit angiotensină I sau hipertensină I şi un tetrapeptid inactiv. Scindarea angiotensinogenului are loc asupra legăturii peptidice dintre cele două resturi de leucină încatenate, încât se deduce care este structura angiotensinei I.

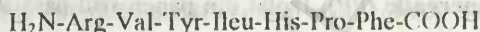
Sub influenţa unei enzime specifice numită enzimă de conversie, angiotensina I pierde histidina şi leucina din poziţia 9 şi 10, rezultând un octapeptid numit angiotensină II, care are următoarea structură:



H_2N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-COOH

Enzima de conversie este activă în prezenţa anionilor de halogeni, dicarbonat, a cationilor de cobalt, mangan şi la un *p*H = 7,25 - 7,30.

Prin acţiunea unei aminopeptidaze, angiotensina II trece în angiotensină III, care este un heptapeptid cu structura:



H_2N-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-COOH

Angiotensina II şi III sunt active din punct de vedere biologic. Activitatea lor este însă de scurtă durată, deoarece angiotensinazele, enzime din categoria aminopeptidazelor, scad activitatea, prin scindarea hidrolitică la peptide din ce în ce mai mici. Timpul de înjumătăţire al angiotensinelor estede 3-5 minute.

Sistemul renină-angiotensină este implicat în multiple acţiuni biologice, mai ales prin componenta activă, angiotensina II, care este considerată ca o substanţă puternic vasoconstrictoare, ceea ce are drept efect creşterea presiunii arteriale. Se apreciază că angiotensina este substanţa cu cea mai puternică acţiune vasoconstrictoare; acest efect al său întrece de peste 40 de ori efectul noradrenalinei. Efectul vasoconstrictor se explică prin contracţia musculaturii netede şi se manifestă şi la nivel cerebral. Concomitent cu acest efect de creştere a tensiunii arteriale, apare insuficienţa miocardică şi mărirea volumului inimii. Efectul vasoconstrictor al angiotensinei se manifestă şi la nivelul rinichiului.

Un alt efect important al angiotensinei II constă în stimularea corticosuprarenalei pentru secreţia aldosteronei, acţionând direct asupra zonei glomerulare. S-a constatat că există o directă proporţionalitate între concentraţia reninei în plasmă şi secreţia de aldosteronă.

Sistemul renină-angiotensină este implicat atât în procesul de resorbţie a cationului de sodiu la nivelul tubului renal, cât şi în apariţia senzaţiei de sete. Angiotensina acţionează şi asupra medulosuprarenalei, stimulând secreţia de catecholamine. Un rol foarte important îl are sistemul renină-angiotensină în menţinerea balanţei hidroelectrolitice a organismului, prin intermediul aldosteronei, cu care formează sistemul renină-angiotensină-aldosteronă. Acest sistem este implicat în apariţia hipertensiunii arteriale şi constituie un sistem intravenos şi extravenos.

Sistemul renină-angiotensină acționează la locul de secreție dar și la nivelul altor organe, ceea ce justifică părerea că el constituie un sistem hormonal cu multiple acțiuni în organism.

Eritropoetina. Este o substanță biologic-activă sintetizată la nivelul rinichiului. Pentru unele mamifere, ca de exemplu caninele, eritropoetina se formează numai în rinichi, pentru altele însă (om, iepuri, șobolani) există și alte țesuturi care secretă acest produs.

Se consideră că eritropoetina s-ar forma prin acțiunea unor enzime intrarenale asupra unor proteine plasmatice, din seria globulinelor. Această părere pune în evidență natura ei peptidică. Secreția eritropoetinei este stimulată de hormonii androgeni.

Rolul biologic important al eritropoetinei constă în stimularea procesului de eritropoeză, acționând asupra măduvei osoase, care este capabilă de a spori numărul de globule roșii în sânge. Acest proces se explică prin stimularea diviziunii eritroblaștilor din măduva osoasă de către eritropoetină.

Viața hormonului sub formă circulantă nu depășește 2-3 ore.

În timpul sarcinii, activitatea eritropoetinei este mai intensă, ceea ce determină și accelerarea procesului de eritropoeză.

4.3.3. Kinine plasmatice

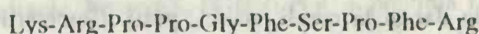
Kininele plasmatice numite și plasmakinine sunt compuși cu structură peptidică care apar în plasma umană sau a animalelor din kininogeni, prin procese enzimatice.

Kininogenii, precursori ai kininelor, sunt proteine din categoria α-globulinelor, care sub acțiunea unei enzime numită kalicreină (kininogenază) au proprietatea de a elibera kinine biologic active. Deci kalicreina este o enzimă care are proprietatea de a elibera substanțe active dintr-un precursor plasmatic inactiv. Se consideră că enzimele numite kalicreine aparțin grupului de enzime numite serinproteaze. Kalicreinele provin dintr-un precursor inactiv numit kalicreinogen, existent în pancreas, glande salivare, perete intestinal, plasmă etc.

Cele mai importante kinine întâlnite în plasma umană și de bovine sunt brandikinina și kalidina, care au următoarele structuri chimice:


Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Bradikinina


Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Kalidina

Se observă cu ușurință că diferența între ele constă în prezența lizinei în componența kalidinei, motiv pentru care aceasta se numește și lizil-bradikinina.

În plasma bovinelor s-a identificat metioninkalidina care are legat de lizină un rest de metionină. Cele mai multe kinine naturale au fost obținute și sintetic.

Rolul biologic al kininelor plasmatice se manifestă la nivelul diferitelor organe și constă în primul rând din acțiuni hipotensoare și de contracție a musculaturii netede. Ele cresc permeabilitatea capilară și scad presiunea arterială; determină senzații dureroase

când vin în contact cu terminațiile nervoase libere din pielea umană. Kininele plasmatice intervin în eliminarea sodiului din organism, stimulează sinteza de prostaglandine, stimulează proliferarea celulelor, sporesc mobilitatea spermatozoizilor și penetrarea la ovul, intervin în reglarea irigației sanguine a unor glande secretorii, sunt implicate și în apariția unor stări patologice etc.

În sânge, plasmokininele sunt inactivate sub acțiunea unor peptidaze. În ficat, rinichi, plămâni, splină există, de asemenea, enzime ce le inactivează. Au legături cu sistemele coagulante.

4.4. Prostaglandine

4.4.1. Aspecte generale

Prostaglandinele constituie un grup relativ nou de compuși organici bilogic-activi, aparținând acizilor grași nesaturați cu 20 atomi de carbon în moleculă, având acțiuni fiziologice caracteristice.

Prezența unor substanțe biologic-active în sperma umană, care produce contracția sau relaxarea mușchilor uterini, a fost semnalată de Kurzrok și Lieb (1930). Mai târziu, Goldblatt (1933) și von Euler (1934) au arătat că extracte din plasma seminală de berbec sau din glande sexuale accesorii au, pe lângă efecte miostimulatoare, și acțiune vasodilatatoare și deci hipotensivă. Cercetările efectuate de von Euler (1935-1937) asupra extractelor din prostată și plasmă seminală au dus la concluzia că principiul activ vasodepresiv și miostimulator este în realitate o substanță de natură lipidică, cu caracter slab acid. Ținând seama de faptul că se extrage din prostată, von Euler a denumit acest principiu activ „prostaglandină".

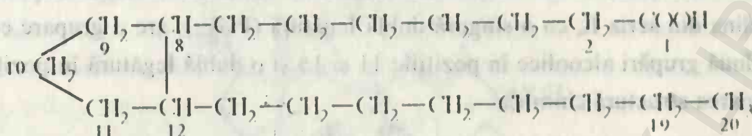
Cercetările inițiate de von Euler au fost reluate de Bergström (1957) care împreună cu Sjövall au reușit să izoleze din prostata de berbec două prostaglandine cristaline, numindu-le prostaglandină E_1 (PGE_1) și prostaglandină F (PGF). Prostaglandinele E sunt solubile în eter, iar cele F sunt solubile în soluții tampon de fosfat.

După anul 1960, cercetările în domeniul prostaglandinelor s-au multiplicat deosebit de mult, constatându-se că acestea apar în multe țesuturi ale mamiferelor, la păsări, la unele insecte dar și la corali, scoici, pești. Cercetările lui Weinheimer și Spraggius (1969) au arătat că o specie de coral ce se găsește în apele de la țărmurile Floridei constituie o sursă importantă de prostaglandine.

S-a constatat, de asemenea, că prostaglandinele sunt acizi grași nesaturați, cu moleculele alcătuite din 20 atomi de carbon, dintre care 5 formează un ciclu. În țesuturile organice, acești compuși se găsesc în cantități extrem de mici, dar manifestă acțiuni biologice deosebit de puternice și de o diversitate foarte mare. Acțiunile lor biologice sunt evidente la concentrații de 10^{-9} g/ml.

4.4.2. Nomenclatură şi structură chimică

Din punct de vedere chimic, prostaglandinele reprezintă o categorie de acizi graşi nesaturaţi cu 20 atomi de carbon în moleculă, ce pot fi consideraţi că provin de la acidul prostanoic, care are următoarea structură chimică:

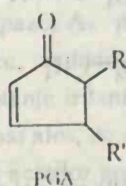


Se poate interpreta că acidul prostanoic este un derivat al ciclopentanului, care are două catene laterale normale:una alcătuită din 7 atomi de carbon terminându-se cu o grupă carboxilică (deci este acidul heptanoic normal), iar a doua reprezentând un rest de octil normal.

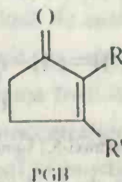
Moleculele prostaglandinelor se diferenţiază de acidul prostanoic prin prezenţa dublelor legături în ciclul de 5 atomi de carbon sau în catenele laterale şi prin prezenţa unor grupări cetonice sau alcoolice. Unele molecule ale prostaglandinelor pot avea două sau trei grupări alcoolice. De asemenea, prostaglandinele cunoscute se diferenţiază între ele prin numărul şi poziţia grupărilor alcoolice şi cetonice, dar şi prin numărul şi poziţia dublelor legături în ciclu sau în cele două catene grefate pe nucleul de ciclopentan.

Deoarece toate moleculele prostaglandinelor cunoscute au o grupare carboxilică, ele ar putea fi denumite ca derivaţi ai acidului prostanoic, indicându-se prin cifre locul funcţiilor chimice (alcoolice sau cetonice). Această nomenclatură deşi este greoaie, totuşi se poate folosi.

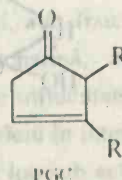
Neexistând diferenţe mari de ordin chimic între aceste molecule, s-a introdus în nomenclatura prostaglandinelor notaţia lor cu litere, chiar înainte de a se cunoaşte exact structura chimică a moleculei. Aşa cum s-a indicat deja în paragraful precedent, introducerea literelor în nomenclatura prostaglandinelor a fost sugerată de condiţiile practice de izolare a lor. Astfel, prostaglandina izolată dintr-o soluţie eterică s-a denumit cu ajutorul iniţialei E (PGE), iar prostaglandina izolată din soluţie tampon de fosfaţi s-a denumit cu ajutorul iniţialei F (PGF). De asemenea, reprezentanţii obţinuţi prin deshidratarea prostaglandinelor E în mediu acid sau bazic au fost denumite prostaglandine A şi respectiv B. Prostaglandinele D sunt izomeri de poziţie ai prostaglandinelor E. De asemenea, prostaglandinele din seriile PGB şi PGC reprezintă izomeri ai celor din seria PGA, diferenţele rezumându-se la poziţia dublei legături de ciclu, aşa cum se observă mai jos:



PGA



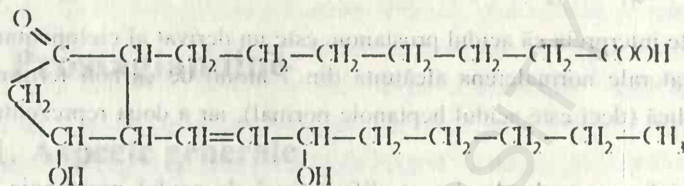
PGB



PGC

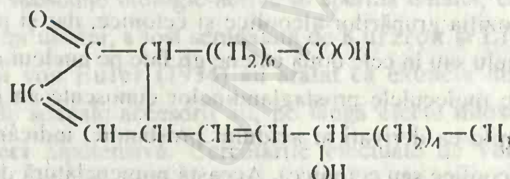
Prostaglandinele naturale, în funcție de structurile lor chimice, aparțin câtorva serii notate prin literele A, B, C, D...I.

Fiecare serie de prostaglandine conține reprezentanți care se deosebesc prin gradul de nesaturare, respectiv prin numărul de legături duble din catenele laterale, ceea ce se indică prin cifre (1;2;3) sub formă de indice la simbolul seriei. Câteva exemple: prostaglandina din seria E, cu o singură dublă legătură (PGE_1), are o grupare cetonică în poziția 9, două grupări alcoolice în pozițiile 11 și 15 și o dublă legătură în poziția 13; are deci următoarea structură chimică:



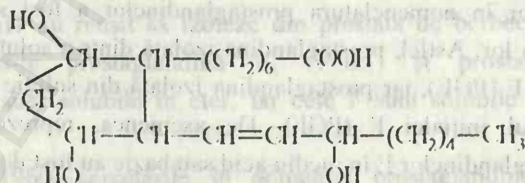
Acid 11,15-dihidroxi-9-ceto-13-prostanoic

Prin îndepărtarea unei molecule de apă din molecula de PGE_1, se formează o dublă legătură în poziția 10-11 și rezultă molecula de PGA_1:



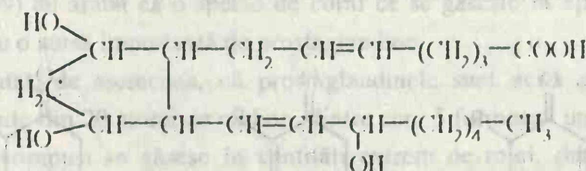
Acid 15-hidroxi-9-ceto-10,13-prostadienoic

Seria PGF se caracterizează prin existența a trei grupări alcoolice în pozițiile 9, 11 și 13; ele rezultă prin reducerea grupării cetonice din poziția 9 a PGE. PGF_1 are următoarea structură chimică:



Acid 9,11,15-trihidroxi-13-prostanoic

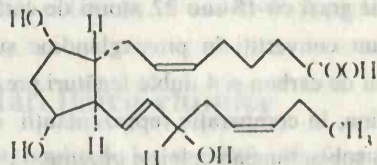
În molecula PGF_2 există două duble legături:



Acid 9,11,15-trihidroxi-5,13-prostadienoic

Ca și în cazul alcanilor, atomii de carbon care alcătuiesc catenele laterale sunt dispuși în formă de zigzag.

Față de planul în care s-ar găsi nucleul de ciclopentan, grupările hidroxilice din pozițiile 9 și 11 pot avea orientări diferite: dacă se găsesc orientate de partea opusă a planului, față de observator, se notează prin simbolul α, iar legătura se reprezintă punctat; în cazul orientării lor spre observator se folosește simbolul β, iar legătura este continuă. De exemplu, prostaglandina $PGF_{3\alpha}$ are următoarea reprezentare grafică:

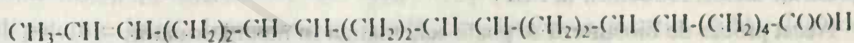


Se înțelege că prezența dublelor legături în catenele laterale vor genera orientări spațiale de tip *cis* și *trans* pentru unele părți din aceste catene, legate de atom de carbon hibridizați sp^2. Prezența ciclului în molecula prostaglandinelor și a celor două catene laterale determină apariția mai multor conformații moleculare, care au implicații biologice deosebite. Numai anumite structuri spațiale ale moleculelor active sunt recunoscute și devin compatibile cu receptorii specifici.

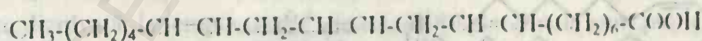
4.4.3. Aspecte privind biosinteza prostaglandinelor

Procesul de biosinteză a prostaglandinelor are loc în numeroase organe și țesuturi: glande veziculare, creier, plămâni, inimă, rinichi, stomac, mucoasa intestinală, endometru, glanda timus. Locul procesului de biosinteză este condiționat de prezența enzimelor specifice.

Se consideră în mod unanim că unii acizi grași nesaturați sunt precursori în procesul de biosinteză a prostaglandinelor. În organism, acești acizi grași se găsesc în componența gliceridelor sau a fosfolipidelor. Dintre acizii grași nesaturați, următorii sunt precursori ai prostaglandinelor:


$CH_3-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_4-COOH$

Acidul 6,10,14,18-cicosantetraenoic (acidul arahidonic)


$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_6-COOH$

Acidul 8,11,14-cicosantrienoic (acidul homo-γ-linolenic)


$CH_3-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)3-COOH$

Acidul 5,8,11,14,17-cicosanpentaenoic

Prima etapă în procesul biosintezei prostaglandinelor constă în scindarea hidrolitică a fosfolipidelor în prezența fosfolipazei A_2 când se eliberează acizii grași precursori. Activarea fosfolipazei A_2 poate fi indusă de mai mulți agenți, atât fizici (traumatisme, vibrații mecanice, radiații U V), cât și chimici (noradrenalină, angiotensină II, bradikinină, substanțe iritante). Activitatea fosfolipazei A_2 este influențată de unele stări patologice, dar mai ales, de creșterea concentrației ionilor de calciu în interiorul celulei.

Conversia acizilor grași nesaturați în prostaglandine are loc sub acțiunea catalitică a prostaglandinsintetazei, care trebuie considerată ca un complex enzimatic, ce se găsește

în foarte multe organe și țesuturi animale. Veziculele seminale de berbec constituie sursa cea mai productivă de sintetază prostaglandinică. Această enzimă are proprietatea de a acționa asupra acizilor grași cu 19,20 și 21 atomi de carbon în moleculă; acizii cu 19 și 20 atomi de carbon și cu 4 duble legături în moleculă sunt transformați în procent mai ridicat în prostaglandine, decât cei cu 21 sau 22 atomi de carbon.

S-a constatat că acizii grași cu 18 sau 22 atomi de carbon și trei duble legături în pozițiile 8, 11 și 14 nu sunt convertiți în prostaglandine sub influența prostaglandin-sintetazei. Acizii cu 20 atomi de carbon și 4 duble legături prezintă un randament superior de conversie în prostaglandine, în comparație reprezentanții cu 20 atomi de carbon, dar numai cu trei duble legături, sub acțiunea aceleiași enzime.

Sub influența glutationului, activitatea prostaglandinsintetazei este deosebit de stimulată, formându-se prostaglandine din seria E și în mică măsură prostaglandine din seria F. Vitamina C are, de asemenea, rol stimulativ asupra prostaglandinsintetazei. Activitatea acestei enzime este stimulată, într-o măsură mai mică, și de către alți compuși (morfina, AMP-ciclic, hidrochinona etc.).

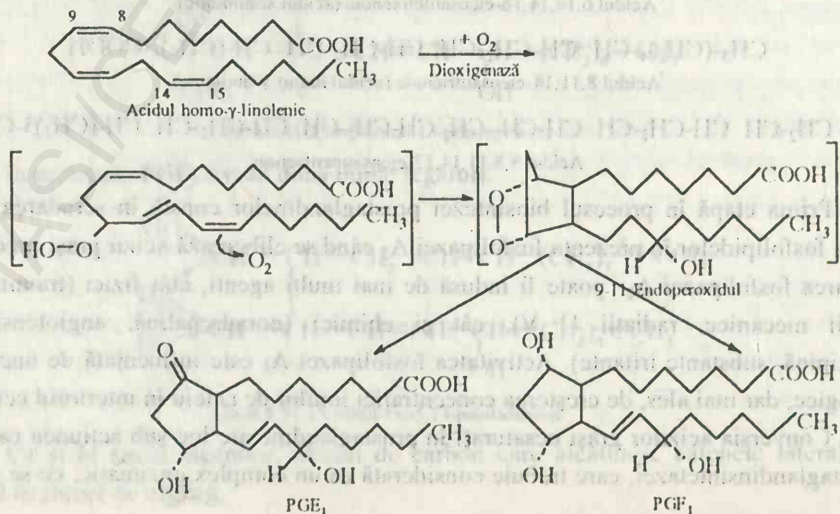
Există și inhibitori ai sintezei prostaglandinelor, care intervin asupra substratului sau inhibă activitatea prostaglandinsintetazei (indometacin).

Transformarea acizilor grași, precursori prostaglandinici, în prostaglandine necesită pe lângă enzima caracteristică și oxigen, dar și prezența unor cofactori cu funcții reducătoare, ca glutationul.

Considerându-se că procesul de biosinteză începe de la acidul homo-γ-linolenic sau acidul arahidonic, are loc dehidrogenare la atomul de carbon 13, urmată de fixarea oxigenului mai întâi la carbonul din poziția 11, formându-se un hidroperoxid. Concomitent cu atacul oxigenului în poziția 15, are loc formarea unui 9-11 endoperoxid, izomerizarea dublei legături din poziția 12 în 13 și apariția unui hidroxil în poziția 15.

Endoperoxidul format poate trece, sub influența unei izomeraze, în PGE sau, dacă sunt prezenți factori reductori, în PGF.

Acest proces de biosinteză se poate schematiza în modul următor:



În cazul în care precursorul este acidul arahidonic, procesul biochimic de formare a prostaglandinelor decurge aproximativ cu cel prezentat anterior. Endoperoxizii intermediari care apar în acest caz se transformă în PGE_2, PGF_2 sau în PGD_2; prezența unor enzime specifice catalizează conversia endoperoxizilor și la alți produși din categoria tromboxanilor sau prostaciclinelor.

Prostaglandinele se pot obține pe cale microbiologică folosind precursori sau prin sinteză chimică totală.

4.4.4. Proprietăți fizico-chimice

În stare pură, prostaglandinele se prezintă sub formă de cristale albe, în unele cazuri cristale gălbui. Se cunosc prostaglandine care, la temperatura obișnuită, se găsesc în stare lichidă, uleioasă. Punctele lor de topire nu depășesc 120°C.

Se dizolvă greu în apă și destul de greu și în etanol, dar sunt ușor solubile în solvenți organici obișnuiți: eter, benzen, clorură de metilen, cloroform, acetat de etil etc.

În mediu apos, în funcție de *p*H și de concentrație, pot forma soluții coloidale.

În structura lor chimică există atomi de carbon asimetrici, ceea ce duce la apariția izomerilor optici, prostaglandinele naturale fiind levogire.

Având în moleculă grupări acide, proprietățile chimice ale prostaglandinelor sunt foarte asemănătoare cu ale acizilor grași superiori nesaturați. Ca și aceștia formează săruri, mai ales cu metale alcaline și alcalino-pământoase.

Prezența dublelor legături favorizează reacțiile de adiție; prostaglandinele adiționează ușor hidrogen, halogenuri etc. Dublele legături sunt sensibile și față de agenții oxidanți; prin oxidare, prostaglandinele pot forma epoxizi, polihidroxiacizi, iar dacă oxidantul este mai energic se poate produce și ruperea oxidativă a catenei.

În mediu acid sau bazic pot suferi deshidratări; astfel, prostaglandinele din seria E prin deshidratare acidă trec în prostaglandine din seria A. Prostaglandinele din seria A se pot izomeriza în prostaglandine din seria B; această izomerizare este favorizată de mediul puternic bazic. Izomerizarea constă în schimbarea poziției dublei legături din nucleul de ciclopentan, din poziția 10 în poziția 12-8.

În stare dizolvată, la temperatura camerei, prostaglandinele sunt puțin stabile; apar izomerizări. De exemplu, PGE_1 solvită în alcool metilic și păstrată circa 30 zile la 5...10°C, trece în PGA_1, iar în mediu alcalin trece repede în PGB_1. Unii reprezentanți, însă, ca PGE_1 și PGE_2 prezintă o bună stabilitate într-un mediu ușor acid cu *p*H 6-7.

4.4.5. Rolul biologic al prostaglandinelor

Aspecte generale. Efectele biologice ale prostaglandinlor sunt numeroase și variate; ele depind de structura lor chimică și conformația moleculară. Rezultă că nu toate prostaglandinele manifestă aceleași acțiuni biologice ci, dimpotrivă, prostaglandinele unei serii pot avea acțiune antagonică acțiunii prostaglandinelor ce aparțin altei serii. Aceste acțiuni depind de specia animală și de cantitatea administrată.

Prostaglandinele își manifestă acțiunea biologică în imediata apropiere a țesuturilor care le secretă. Ajunse în circulația sanguină sunt relativ stabile, dar unele

dintre ele sunt în mare proporție reținute de către plămân (cazul PGE_1 și PGE_2); altele sunt inactivate pe cale enzimatică la acest nivel (cazul PGE_1; PGE_2, $PGF_{2\alpha}$), iar o altă categorie trece prin plămâni nemodificată (PGA_1, PGA_2). Unii reprezentanți sunt reținuți și în ficat.

Prin acțiunea enzimelor asupra prostaglandinelor, apar produși metabolizați, cu activitate biologică inferioară.

Activitatea biologică a prostaglandinelor se manifestă la acele organe unde există receptori specifici. Acești receptori sunt de natură proteică și se găsesc în membrana celulară a organelor țintă.

Prostaglandinele intervin în activitatea aparatului de reproducere, a tractului gastrointestinal, aparatului circulator, aparatului renal, respirator, glandelor endocrine, sistemului nervos, în metabolism și altele.

Acțiunea prostaglandinelor asupra aparatului de reproducere. În procesul de reproducere al mamiferelor sunt implicate prostaglandinele care aparțin mai multor serii.

În lichidul seminal uman s-au identificat 15 prostaglandine aparținând seriilor E, F_α, A și B; în proporție mai mare se găsesc PGE_1 și PGE_2. Lichidul seminal de om și de berbec are concentrațiile cele mai ridicate în prostaglandine. Prezența prostaglandinelor contribuie la migrarea spermatozoizilor, favorizând fecundarea și nidarea. La bărbații infertili, concentrația PGE_2 în spermă este foarte mică.

În organismul feminin, la nivelul aparatului genital, prostaglandinele intervin în maturarea foliculilor ovarieni și producerea ovulației, rol manifestat mai ales de PGE_2 și PGF_2. S-a pus în evidență efectul luteolitic indus de $PGF_{2\alpha}$ asupra corpului luteal, dotat cu receptori specifici; după constituirea placentei, prostaglandinele influențează regresiunea corpului galben și inhibă secreția de progesteronă. Prostaglandinele din seria F determină contracția uterului negravid, activitate mai pronunțată în această direcție având $PGF_{2\alpha}$. Sensibilitatea mușchiului uterin la acțiunea prostaglandinelor depinde de faza ciclului menstrual, iar în cazul uterului gravid depinde de faza în care se află sarcina.

Prostaglandinele au proprietatea de a stimula motilitatea uterului gravid în toată perioada sarcinii; această activitate este mai intensă în cazul sarcinii ajunsă la termen, când poate fi declanșat travaliul. PGE_2 este mai activă în acest caz.

Administrarea intravenoasă de PGE_2 și $PGF_{2\alpha}$ pot declanșa avortul; administrate intrauterin, determină apariția menstruației. La femei, după inducerea avortului folosind $PGF_{2\alpha}$, apare și procesul de lactație.

În general, administrarea prostaglandinelor la animale în lactație stimulează ejecția laptelui.

Acțiunea prostaglandinelor asupra tractusului gastrointestinal. Această acțiune depinde de natura prostaglandinelor și se manifestă atât în activitatea motorie, cât și secretorie.

Prostaglandinele din seria E determină contracția mușchilor longitudinali intestinali și relaxarea fibrelor musculare circulare, iar $PGF_{1\alpha}$ și $PGF_{2\alpha}$ determină contracția ambelor categorii de mușchi intestinali. PGE_1 intervine în stimularea

contracției stomacului. Administrată pe cale bucală, PGE_1 produce la om colici, diaree și trecerea bilei în duoden.

Prostaglandinele inhibă motilitatea musculaturii traheo-bronhice, instalându-se dilatarea bronhiilor. Prostaglandinele din seria E relaxează musculatura bronșică, iar cele din seria F au proprietăți bronho-constrictoare.

Administrarea intravenoasă la unele animale de PGE_1 și PGE_2 inhibă secreția gastrică. S-a pus în evidență că și la om prostaglandinele sunt implicate în controlul secreției gastrice, inhibând secreția gastrică acidă. De asemenea, ele intervin și asupra controlului debitului sanguin în mucoasa gastrică. Prostaglandinele din seria E au proprietatea de a preveni apariția ulcerelor gastrice la om. S-a constatat că unele prostaglandine stimulează secreția intestinală de dicarbonat.

Datorită proprietăților lor de a interveni asupra secreției gastrice, de a preveni apariția ulcerului stomacal și duodenal, prostaglandinele au utilizări terapeutice.

Acțiunea prostaglandinelor asupra aparatului circulator. Acțiunea hipotensivă a extractelor de prostată a fost observată încă din anul 1933.

După cunoașterea structurii chimice a prostaglandinelor și studierii efectului lor biologic s-a constatat că termenii din seria A și E au proprietăți hipotensive, iar cei din seria F au proprietăți vasoconstrictoare. Acțiunea hipotensivă este de scurtă durată și diferă de la o categorie de prostaglandine la alta.

Prostaglandinele sunt biosintetizate și la nivelul inimii, de unde s-au izolat și identificat. S-a constatat că la nivelul acestui organ prostaglandinele, în general, modifică permeabilitatea membranelor celulare.

Prostaglandinele din seria E (PGE_1 și PGE_2) afectează funcțiile cardiace, stimulând contracția miocardului la unele animale, crescând debitul cardiac la animale și la om, in timp ce $PGF_{2\alpha}$ manifestă asupra cordului creșterea forței de contracție și creșterea fluxului sanguin al vaselor coronare, dar nu influențează frecvența cardiacă și debitul cardiac al omului.

PGE și PGA manifestă acțiune vasodilatatoare asupra arterelor musculare și cutanate ale membranelor, dar asupra arterelor pulmonare au acțiune relaxantă, în timp ce PGF are acțiune vasoconstrictoare și deci mărește presiunea sanguină. De asemenea, influențează diureza și eliminarea de cationi de sodiu și potasiu.

La nivelul creierului, PGF_2 mărește rezistența vaselor, iar PGA și PGE determină creșterea fluxului sanguin cerebral.

PGE_1 și PGE_2 sunt implicate și in activitatea unor enzime din pereții arteriali, care au drept substrat colesterolul.

Acțiunea prostaglandinelor asupra aparatului renal. Biosinteza prostaglandinelor are loc și la nivelul rinichilor multor animale și ai omului. Elaborarea lor se face nu numai în zona medulară renală, ci și de către alte celule, având ca precursor acidul arahidonic; apar în special prostaglandine din seria E.

În acest organ, prostaglandinele au efect vasodilatator și de creștere a debitului sanguin renal; acest efect este manifestat mai ales de PGA și PGE, in timp ce PGF nu au această proprietate.

Unele păreri susţin că numai PG biosintetizate în rinichi influenţează fluxul sanguin renal. În realitate, hemodinamica renală este coordonată de interacţiunea PG cu alte sisteme ca: renina-angiotensina, kinina-kalicreina, catecholaminele. Există o interdependenţă între elaborarea de PG şi sistemul renină-angiotensină; eliberarea reninei este dependentă de PG, iar angiotensina II influenţează formarea PG.

La nivelul rinichiului, prostaglandinele sunt implicate şi în reglarea excreţiei de apă şi electroliţi. Injectate în artera renală la câine, PGE, PGE_2 şi PGA_1 determină creşterea volumului urinar şi eliminarea sodiului, potasiului şi clorului.

Acţiunea prostaglandinelor asupra dinamicii sodiului la nivelul rinichiului este controversată; unele cercetări susţin reabsorbţia sodiului, iar altele susţin că inhibarea sintezei de prostaglandine determină scăderea reabsorbţiei tubulare de sodiu.

Se pare că acţiunea prostaglandinelor asupra rinichiului depinde şi de specia animală; astfel PG din seria E determină vasoconstricţie în rinichiul de şobolan şi vasodilataţie în cel de câine şi iepure.

Influenţa prostaglandinelor asupra aparatului respirator. La nivelul plămânului are loc şi sinteza şi metabolizarea prostaglandinelor; se sintetizează mai ales prostaglandine din seria E şi F. După sinteză, cea mai mare parte a prostaglandinelor sunt distruse (80-90%) printr-un metabolism intens în acest organ.

Experienţele efectuate prin administrare intravenoasă de $PGF_{2\alpha}$ sau prin aerosoli duc la concluzia că apare o puternică constricţie a căilor respiratorii (trahee, bronhii), probabil printr-o acţiune directă asupra musculaturii netede a acestor organe, sau poate printr-o acţiune indirectă, pe cale nervoasă.

S-a constatat că şi la nivelul aparatului respirator acţiunea prostaglandinelor variază de la o specie la alta sau chiar în cadrul aceleiaşi specii. Astfel $PGF_{2\alpha}$ are efect bronhoconstrictor, iar PGE_1 are totdeauna efect bronhodilatator, fiind antagonică efectului produs de histamină, serotonină şi acetilcolină. PGE_2 are efecte bronhodilatatoare, dar mai ales la om şi cobai are efect slab bronhoconstrictor. Administrată astmaticilor, PGE_2 a dat rezultate contradictorii: bronhodilatatorii şi bronhoconstrictive, ceea ce a dus la interpretarea unei posibile conversii a PGE_2 şi PGF_2, aceasta din urmă fiind cunoscută prin efectul ei bronhoconstrictor la asmatici.

Alte prostaglandine au efecte diferite asupra căilor respiratorii: de exemplu PGA_1 are efect slab bronhodilatator, iar PGB_1 şi PGB_2 sunt bronhoconstrictoare.

Influenţa prostaglandinelor asupra glandelor endocrine. Domeniul interacţiunii prostaglandinelor cu glandele endocrine este deosebit de mult cercetat şi va fi multă vreme, deoarece intervin aspecte foarte variate. Practic există cercetări care urmăresc influenţa prostaglandinelor asupra fiecărei glande endocrine, mai puţin asupra glandelor paratiroide şi epifizei.

S-a pus în evidenţă că prostaglandinele din seria E stimulează funcţia glandei tiroide, favorizând captarea iodului şi fixarea lui de proteine, precum şi stimularea sintezei de coloid tiroidian. În cancerul tiroidian, secreţia de prostaglandine este crescută. Prostaglandinele intervin şi în procesele de oxidare la nivel tiroidian; PGE_1, PGE_2 şi PGF_1 stimulează oxidarea glucozei.

Prostaglandinele au rol important în controlul secreției de hormoni hipotalamici - eliberatori și pot acționa direct asupra glandei hipofize prin prezența receptorilor prostaglandinici la nivelul acestei glande.

Deși există foarte multe contradicții în literatură, câteva generalizări, deduse pe cale experimentală, se pot face. Prostaglandinele din seria E stimulează secreția de LH și FSH.

PGE_1, PGE_2, $PGF_{1\alpha}$ și $PGF_{2\alpha}$ stimulează eliberarea hormonului de creștere (GH); AMP-ciclic hipofizar este un intermediar necesar în acest proces.

Prin intermediul hipotalamusului, prostaglandinele influențează secreția de ACTH.

PGE_1 și PGE_2 stimulează eliberarea de TSH la șoarece și șobolan. $PGF_{2\alpha}$ administrat intravenos produce creșterea concentrației de prolactină în plasmă, intervenind probabil în mod indirect. $PGF2_{\alpha}$ este implicată și în eliberarea de somatotropină.

Prostaglandinele intervin și în activitatea glandei corticosuprarenalei. $PGF_{2\alpha}$ favorizează secreția cortizolului, ca și PGE, dar prostaglandinele din seria F inhibă forma corticosteroizilor. Acțiune antagonică a prostaglandinelor din seria E și F apare și asupra secreției de aldosteron.

PGE_2 este implicată în eliberarea de noradrenalină, în anumite condiții, inhibând-o.

Injectara de PGE_1 la șoareci determină o creștere notabilă a concentrației de insulină în plasmă și în această direcție există rezultate contrarii.

Se consideră că la nivel hipotalamic, prostaglandinele seriei F sunt implicate în termogeneză, ele determinând apariția febrei.

Influența prostaglandinelor asupra sistemului nervos. Numeroase cercetări au pus în evidență prezența prostaglandinelor în țesuturile nervoase, inclusiv în lichidul cefalorahidian. S-au identificat PGD_2, PGE_2, $PGF_{2\alpha}$ și altele. La multe specii s-a constatat că $PGF_{2\alpha}$ predomină din punct de vedere cantitativ, deoarece în țesutul nervos PGE_2 poate trece în $PGF_{2\alpha}$.

Influența prostaglandinelor asupra sistemului nervos central a fost urmărită de Horton (1965-1973), constatând că PG din seria E (PGE, PGE_2, PGE_3) produc la puii de găină, la pisici, la șoareci efecte sedative trecătoare și tranchilizante precum și o stare de deprimare. De asemenea, PGE_1 manifestă și o acțiune anticonvulsivantă, tot de scurtă durată. La pisică s-a observat și dilatarea moderată a pupilelor.

Cercetările au pus în evidență faptul că PG acționează atât la nivelul măduvei spinării, cât și la nivelul central. Prostaglandinele din seria F au acțiuni asupra sistemului nervos central opuse celor din seria E.

Prostaglandinele și mai ales $PGF_{2\alpha}$ au efecte asupra căilor motorii, producând tulburarea lor. Prostaglandinele sunt implicate și în eliberarea de acetilcolină.

Efectele prostaglandinelor la nivelul sistemului nervos central se exercită mai ales asupra neuronilor din trunchiul cerebral, mai frecvent în sens stimulativ. Asupra sistemului nervos vegetativ, prostaglandinele au rol de mediatori chimici, având efecte modulatoare asupra sinapselor.

5 INTERFERONI

5.1. Aspecte generale

Interferonii constituie un grup relativ mic de compuşi biologic-activi, de natură proteidică, care sunt biosintetizaţi în celula vie şi formează un prim mecanism de apărare a celulei faţă de o infecţie virotică. Alături de alte mijloace imunologice de combatere a atacurilor virotice, interferonii reprezintă substanţe endogene cu acţiune antivirală, care manifestă un spectru larg de acţiune şi au proprietatea de a fi activi atât în celulele speciei în care au fost elaboraţi, cât şi în celulele altor specii foarte înrudite cu primele.

Celulele vii produc interferon ca replică la un atac nu numai al virusurilor, ci şi atunci când sunt invadate de unele microorganisme, endotoxine bacteriene, acizi nucleici nevirotici, anumiţi compuşi sintetici etc. Interferonul format ca răspuns la substanţele „atacante" are rolul important de a inhiba proliferarea factorului patogen, care a atacat celula-gazdă.

Inteferonul a fost descoperit de A. Isaacs şi J. Lindenmann (1952); aceşti cercetători studiau infecţiile celulare provocate de virusuri, ajungând la concluzia că infecţia unei celule determinată de un virus inhibă dezvoltarea unui alt virus în aceeaşi celulă, deja infectată. Apare un proces de interferenţă care are ca rezultat elaborarea de către celulă a unui produs cu rol de apărare, căruia i s-a dat numele de interferon.

Cercetările au arătat că în realitate există mai multe substanţe cu proprietăţi antivirale, care se includ în noţiunea de interferon şi care manifestă şi alte proprietăţi biologice, de mare importanţă.

Deoarece purificarea interferonului este foarte dificilă, structura lui chimică nu a fost încă precizată. Faptul că este sensibil la acţiunea unor enzime proteolitice permite interpretarea că este de natură proteică, iar după masa sa moleculară variabilă, cuprinsă între 15 000 şi 100 000, se deduce că este un produs proteic macromolecular, alcătuit din peste 100 resturi de aminoacizi. În componenţa interferonului există şi o parte neproteică, de natură polizaharidică; deci el este o glicoproteidă. Secvenţa aminoacizilor din componenţa părţii proteice şi structura chimică a restului polizaharidic determină anumite proprietăţi pentru interferoni. Prezenţa interferonului s-a dovedit nu numai la om şi mamifere, ci şi la păsări, reptile, peşti, unde mecanismele de reacţie determinate de acest produs sunt mai bine cunoscute decât în cazul interferonului uman.

5.2. Formarea interferonului celular

Toate tipurile de celule ale vertebratelor au proprietatea de a produce interferon când sunt stimulate în acest sens.

În afară de virusuri există multe substanțe inductoare de interferoni, și anume: eteri, esteri, cetone, derivați antrachinonici și xantenici, acridine și tiazine, mulți compuși macromoleculari cu diferite structuri chimice, polinucleotide etc. Din categoria inductorilor fac parte și microorganismele parazite intracelulare, unele protozoare, produși bacterieni de tipul lipopolizaharidelor, endotoxine și unele substanțe cu moleculă mică cum sunt coloranții bazici, cicloheximida și alții.

Existența unui număr atât de mare de inductori duce la interpretarea posibilității formării interferonului după mai multe mecanisme.

Interferonul este un produs de biosinteză celulară. Asupra modului său de formare există două ipoteze.

Prima ipoteză consideră că celulele au proprietatea de a produce în mod constant un prointerferon, iar apariția inductorilor ar stimula formarea unui sistem activator capabil de a determina transformarea prointerferonului în interferon activ. După această ipoteză ar rezulta că interferonul apare oricând în celulă, dacă intervin factori inductori.

A doua ipoteză susține că interferonul este un produs biosintetic nou. Cercetările au demonstrat că apariția interferonului în celulă este condiționată de formarea unui ARN-mesager dependent de ADN celular. Folosind antimetaboliți care inhibă sinteza proteinelor, C. D. Burke și A. Buchan (1965) au dovedit că interferonul este un produs *de novo* al celulei.

Faptul că formarea interferonului se petrece în celulă numai după apariția unui inductor viral sau neviral și depinde de formarea unui ARN-mesager dependent de ADN celular, duce la interpretarea că biosinteza interferonului este o formă de sinteză biochimică proteică indusă genetic. Informația genetică necesară formării interferonului se găsește ca o zestre ereditară a celulelor tuturor vertebratelor, fiind sub controlul unui represor endogen stabil; sinteza interfronului este represată. Deci interferonul nu se găsește în mod normal în celulă, ci apare ca rezultat al acțiunii inductorului asupra represorului endogen și are loc derepresia funcției unor gene celulare; se inițiază sinteza unui ARN-mesager care specifică sinteza protein-interferonului.

S-a pus în evidență că inductorul sintezei de interferon este reprezentat, în cazul virusurilor, de o moleculă de ARN cu greutate moleculară foarte mică.

Biosinteza de interferon la nivelul celulei începe la câteva ore de la apariția inductorului. Sinteza interferonului durează 18-20 ore. Paralel cu această sinteză, celulele produc și alte tipuri de proteine noi, cu rol necunoscut.

Acumularea interferonului joacă apoi rol de represor al propriei sale formări, împiedicând procesele stimulative ale biosintezei (apare inhibiția prin efect feed-back).

Mai mulți cercetători ca Cogniaux Le Clerc și A. N. Levy (1966) precum și C. Colby și M. J. Chamberlin (1969), pe baza datelor experimentale, susțin existența în

celule a unor situsuri specifice, care interacționează cu moleculele inductoare; apare o compatibilitate între structura chimică a inductorului și situsul specific din receptorul celular, implicate în producerea interferonului.

Unele tipuri de celule, dar mai ales limfocitele, prin stimulare de către virusuri, au proprietatea de a produce interferon viral, dar concomitent se formează și așa-numitul interferon imun numit γ-interferon.

Acest tip de interferon diferă din punct de vedere fizico-chimic de interferonul clasic, dar modul său de acțiune biologică este practic identic cu al acestuia din urmă.

Producerea interferonului celular poate fi blocată prin inhibiția sintezei de ARN. De asemenea, în timpul multiplicării virale pot să se producă diferite substanțe care stimulează sinteza interferonului sau o inhibă. Există virusuri care inhibă formarea de interferon, acestea fiind numite *virusuri blocante*, fenomen numit de Lindenmann *interferență inversă*.

5.3. Nomenclatură și clasificare

Interferonul este un proteid a cărui grupare prostetică este constituită din resturi polizaharidice, având acizi sialici terminali. Structura lui chimică nu este bine cunoscută, încât nu i se poate atribui o denumire care să sugereze componența sa. Denumirea de glucoproteid biologic-activ este insuficientă pentru a reflecta ceva din proprietățile ce caracterizează acest produs; în categoria glucoproteidelor se includ mai multe substanțe.

Se cunosc însă mai multe substanțe impure de diferite proveniențe care formează categoria interferonilor. S-a convenit ca pentru toate aceste substanțe care alcătuiesc categoria interferonilor să se folosească abrevierea internațională IFN, care se găsește astăzi în literatură. Proveniența interferonilor se indică prin câteva litere ce provin din numele speciei de la care s-a izolat produsul astfel: Hu IFN este prescurtarea pentru interferonul uman, Mu (șoarece), Bov (bovine), Rat (șobolan).

Moleculele de interferon se dovedesc prin structura lor, ceea ce a dus la clasificarea interferonului uman în trei tipuri: α-interferon, β-interferon și γ-interferon.

Interferonul de tip α este produs de globulele albe stimulate viral; este interferonul leucocitar. Se consideră că există aproximativ 14 subtipuri de α-interferon, fiecare fiind produs de gene specifice. Între aceste subtipuri există diferențe de până la 30% privind secvența aminoacizilor, observându-se și unele diferențe privind activitatea biologică *in vitro*.

Interferonul de tip β este produs de fibroblaste (celule ale țesuturilor conjunctive stimulate de ribovirusuri monocatenare) și de celule epiteliale din organe infectate. Se pare că există un singur tip de interferon β, care are secvența aminoacizilor asemănătoare cu a interferonului de tip α, dar proprietățile chimice și biologice sunt diferite.

Interferonul de tip γ este produs de globulele albe la care s-a indus starea de imunocompetență. Și γ-interferonul se găsește sub forma unui singur tip, deosebindu-se de ceilalți interferoni prin structură.

Activitatea interferonului se exprimă prin unități internaționale (UI). O unitate internațională este dată de cantitatea de interferon capabilă să protejeze 50% din celulele expuse la infecție cu un virus.

5.4. Obținerea interferonului în culturi de celule de mamifere

Deoarece interferonul prezintă mare importanță pentru protejarea sănătății, s-au efectuat cercetări în vederea extragerii lui din sânge, cât și a preparării lui *in vitro*.

La laboratorul central de sănătate din Helsinki s-a încercat (1978) extragerea interferonului din sânge uman. Din 50 000 litri de sânge s-a reușit să se extragă 0,1 g de interferon. Ținând seama de faptul că în scopuri terapeutice se folosesc cantități extrem de mici, cantitatea de mai sus este de luat în seamă. Totuși, această metodă de obținere a interferonului prin extracție din sânge uman nu poate fi folosită pe scară mare, deoarece colectarea sângelui prezintă dificultăți enorm de mari.

O posibilitate mai nouă de a produce interferon o constituie calea folosirii culturilor de celule umane sau de diferite specii de mamifere. Metoda face parte din grupul de biotehnologii moderne, care își fac apariția ca urmare a unei necesități practice de mare actualitate.

Folosind cultura de celule *in vitro* s-a reușit obținerea de interferon, care este mai ieftin decât cel obținut prin extracții din sânge și se poate folosi cu succes în terapeutică.

Expusă în mod general, metoda constă în cultura celulelor în tipuri corespunzătoare de bioreactoare, urmând apoi infectarea lor cu un virus; s-a folosit virusul Sendai. După 24 ore de la inoculare are loc centrifugarea culturii de celule și apoi se trece la separarea interferonului format.

Această metodă de obținere a interferonului s-a pus în practică pentru prima dată la Helsinki. Din 2 litri de sânge s-au putut separa 4 000 000 UI α-interferon. Metoda s-a folosit în continuare și se obține anual o producție de 400 miliarde unități interferon.

În Marea Britanie, Statele Unite ale Americii, Japonia, Ungaria și în alte state s-a pus la punct o metodă biotehnologică de obținere a β-interferonului. Metoda constă în folosirea celulelor fibroblastice supuse culturii *in vitro*. Aceste celule se obțin din țesuturi foetale.

Se cunoaște că celulele foetale se dezvoltă și se multiplică fixate pe un suport solid; în vederea obținerii unor bune randamente în interferon, s-a folosit tehnica bulelor microscopice, metodă prin care crește în mare măsură suprafața suportului solid și în consecință crește și cantitatea de interferon.

În Anglia, Japonia, Statele Unite ale Americii s-a pus în practică și obținerea γ-interferonului, folosind pentru cultură celule limfatice a căror diviziune este stimulată de anumiți inductori, cum sunt enterotoxina stafilococilor, fitohemaglutinina și alții.

Interferonul obținut pe cale biotehnologică a fost folosit cu bune rezultate în practica medicală pentru combaterea maladiilor virale și a tumorilor maligne (asupra acestora din urmă rezultatele nu sunt încă convingătoare).

5.5. Rolul biologic al interferonului

Acțiunile biologice determinate de interferon se pot grupa în trei categorii: acțiuni antivirale, acțiuni antitumorale și acțiuni imunoregulatoare.

Acțiunea antivirală a interferonului nu se manifestă direct, ci indirect, el fiind un inductor al unei astfel de acțiuni.

Interferonul elaborat în celule se leagă de un receptor existent pe membrana celulară, el rămânând activ chiar dacă se găsește legat de receptor. Astfel, interferonul are proprietatea de a derepresa sinteza unui nou ARN-mesager pe a cărui informație se va sintetiza o nouă proteină care inhibă multiplicarea acidului nucleic viral, respectiv inhibă sinteza componentelor virale. Deci, acțiunea antivirală a interferonului se exercită prin împiedicarea transmiterii infecției virale la celulele care au pe membrana lor receptori interferonici. În aceste acțiuni, interferonul intervine și pe cale metabolică stimulând sinteza unor enzime ca poliadenilat sintetaza, proteinkinaza, unele nucleaze. Aceste enzime blochează sinteza unor proteine și depolimerizează materialul genetic al virusurilor.

Acțiunea protectoare antivirală a interferonului se manifestă mai ales asupra celulelor vecine care l-au produs și este mai slabă pentru celulele mai îndepărtate. În general, interferonul este mai eficient pentru celulele speciei care l-a produs; există însă și excepții. Astfel, interferonul uman elaborat de globulele albe are mai bună acțiune protectoare pentru celulele bovine decât pentru cele umane; el este activ și pentru celulele altor specii. Pentru celulele umane prezintă activitate interferonul bovin, pe lângă cel uman.

Acțiunea antitumorală a interferonului se exercită prin inhibarea diviziunii celulelor normale și tumorale, prin lungirea duratei de generație și, în general, prin blocarea proliferării celulelor. Activitatea antitumorală se manifestă și prin producerea unor modificări ale membranei celulare, care favorizează recunoașterea mai rapidă a celulelor tumorale ca structuri străine (nenormale) de către sistemele de apărare ale organismului. Interferonul favorizează activitatea fagocitară a celulelor care alcătuiesc sistemul fagocitar și efectul de citotoxicitate limfocitară, intensificând acțiunea celulelor specializate în rezistența organismului față de tumori (aceste celule sunt cunoscute sub numele de limfocite NK; abrevierea provine de la cuvintele: natural Killer – ucigași naturali). Acțiunea antitumorală a interferonului se exercită și prin activitatea altor sisteme celulare.

Acțiunea imunoreglatoare sau imunomodulatoare a interferonului se manifestă prin intervenția sa asupra sistemului imunologic al organismului, determinând creșterea

rezistenței acestuia la infecțiile virale. Se poate spune că interferonul favorizează imunocompetența organismelor.

Activitatea biologică a interferonului se manifestă la concentrații extrem de mici. *In vitro*, acțiunea antivirală se produce la o concentrație de 10^{-15} moli, iar activitatea imunomodulatoare *in vivo* se pune în evidență în doze de aproximativ 1- ng/g animal.

Experiențele pe animale au stabilit că interferonul endogen joacă un rol foarte important în ameliorarea sănătății. Blocând sistemul interferonic, infecțiile virale se amplifică și mortalitatea poate să crească.

Exploatarea interferonului în favoarea organismului se poate face prin administrare de interferon extracelular sau prin administrare de substanțe interferon-inductoare. Terapia cu interferon necesită multă precauție, deoarece apar și efecte secundare; acestea sunt determinate de modul de administrare, de freevență și de doza folosită.

În terapia cu interferon pot să apară următoarele efecte secundare: febră, oboseală generală, pierdere în greutate, funcționarea mai lentă a ficatului, dureri de cap, leziuni superficiale hepatice, rărirea părului, uscarea mucoasei bucale și altele.

Unele toxicități care apar la tratarea cu interferon nu sunt determinate de impuritățile care însoțesc interferonul incomplet purificat, ci probabil se datorează însuși interferonului.

Deși se produce *in vitro* în mai multe țări ale lumii, folosindu-se biotehnologii moderne, interferonul rămâne un produs deficitar și foarte scump, ceea ce determină o utilizare prea limitată în terapeutică.

6 FEROMONI

6.1. Aspecte generale

Feromonii reprezintă o serie largă de compuşi organici de natură endogenă, care ajută la comunicarea dintre indivizii aceleiaşi specii; existenţa lor a fost semnalată prin observaţii şi cercetări efectuate încă din anul 1941, dar mai ales după anul 1945. Prezenţa feromonilor a fost identificată la mai multe specii: insecte, peşti, şerpi, mamifere etc.

Feromonii sunt lansaţi în exteriorul organismului în cantităţi extrem de mici, de ordinul nanogramelor, numai atunci când apare o stare de excepţie, de alarmă, cum este cazul atragerii insectelor spre hrană, perioada împerecherii, depunerea de ouă etc.

Denumirea de feromon a fost dată de P. Karlson, A. Butenandt şi M. Lüscher (1959) pentru compusul chimic lansat de o vietate, care este recepţionat de un individ din cadrul aceleiaşi specii, uneori de sex opus. Compusul lansat se transmite prin aer sau prin apă, de la un individ la altul, fiind recepţionat datorită unui miros specific.

Primul reprezentant din sfera feromonilor a fost izolat de către Butenandt şi colaboratorii (1959) din glandele odorifere ale fluturelui de mătase. Astfel de substanţe atractante, cu mirosuri specifice, sunt lansate de multe insecte.

Studiul acestor substanţe atractante a fost orientat spre un aspect aplicativ, urmărind scăderea contaminării cu insecte a culturilor vegetale prin amestecarea lor cu insecticide.

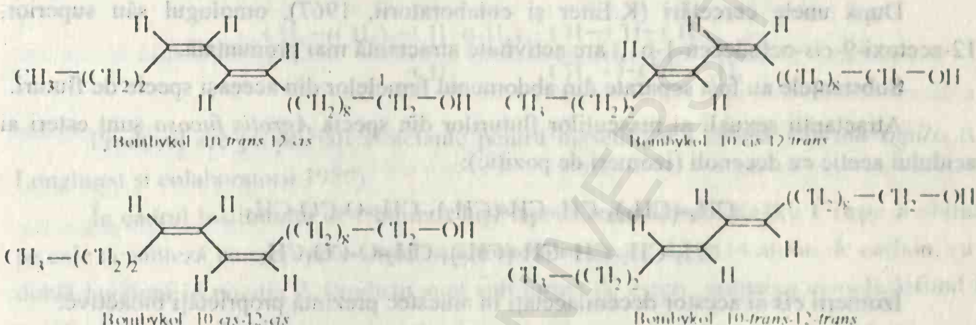
Gândacii şi insectele, în general, au proprietatea de a distinge substanţele atractante, chiar dacă acestea se găsesc în concentraţii extrem de mici. Din unele observaţii experimentale se apreciază că sensibilitatea sistemului gustativ şi olfactiv al insectelor este de 2 400 ori mai mare decât a omului. Apare logic posibilitatea atragerii insectelor spre locurile unde există un amestec de insecticid şi foarte puţin atractant, ceea ce va avea ca rezultat sporirea mortalităţii insectelor.

După izolarea şi determinarea structurii chimice a feromonilor, s-a reuşit într-un timp scurt să se elaboreze metoda de obţinere a lor pe cale de sinteză. Astăzi se obţin feromoni la scară industrială în mai multe ţări ale lumii.

Cercetări privind obţinerea de noi feromoni-sintetici s-au făcut şi în România, la Institutul de Chimie Cluj-Napoca.

6.2. Structură chimică. Reprezentanți

Primul reprezentant din seria feromonilor a fost izolat de Butenandt (1959). El a observat că fluturele ieșit din gogoașa viermelui de mătase atrage imediat masculii de la distanțe foarte mari. După o muncă de cercetare de 20 ani, Butenandt și colaboratorii au reușit să izoleze din 500 000 fluturi-femele $2 \cdot 10^{-4}$ g produs activ. Acesta s-a dovedit a fi un alcool primar nesaturat, cu 16 atomi de carbon în moleculă, căruia i-au dat numele de bombykol. Denumirea științifică a bombykolului este 10,12-hexadecadien-1-ol. Având două duble legături în moleculă, produsul poate avea patru izomeri geometrici, care au fost obținuți pe cale de sinteză:



S-a stabilit că efectul atractant se datorește izomerului 10-*trans*-12-*cis*.

Cercetarea inițiată de Butenandt a deschis drumul spre izolarea de noi produși bioactivi, încât într-un timp scurt s-au identificat peste 50 de feromoni.

În general, feromonii au moleculă mică, alcătuită din 5 la 20 sau la 22 atomi de carbon, cu structuri chimice și stereochimice foarte variate.

Feromonii se pot clasifica după structura lor chimică în următoarele categorii: cu o singură legătură dublă, cu două duble legături în sistem conjugat sau izolat, cu grupări carbonilice (aldehide sau cetone), cu legături acetalice intramoleculare, terpenoidici, heterociclici și cu funcții mixte.

6.2.1. Feromoni cu o singură dublă legătură

Feromonii din această categorie au structuri chimice relativ simple, având în comun prezența unei singure legături. Unii dintre ei sunt hidrocarburi nesaturate, alții sunt esteri având și funcții alcoolice libere. Au fost identificați în diferite insecte, dar s-au preparat și pe cale sintetică. Unii sunt optic activi.

În cuticula și excrementele muștei de casă, femelă (musca domestică), s-a identificat o hidrocarbură din seria olefinelor, cu 23 atomi de carbon în moleculă și cu dublă legătură în poziția 9, catena fiind normală; este 9-tricosen:



$$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_{12}-CH_3$$

Acest produs este un feromon sexual, preparat și prin sinteză.

Din categoria feromonilor sexuali fac parte și alcoolii nesaturați cu 14 atomi de carbon, identificați în glanda insectei Sparganothis (femelă):

$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_9\text{-}CH_2\text{-}OH$

11-Tetradecen-1-ol

Produsul se găseşte şi sub formă esterificată cu acid acetic. Sub această formă de acetat este elaborat şi de fluturele *Argyrotaenia velutinana*. Produsul are izomeri geometrici.

Atractantul fluturelui stejarului (fluture de noapte cunoscut sub numele *Lymantria dispar)* este din punct de vedere chimic 10-acetoxi-7-hexadecen-1-ol, cu următoarea structură:

$$CH_3\text{-}(CH_2)_5\text{-}\underset{\displaystyle |\atop O\text{-}CO\text{-}CH_3}{CH}\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_5\text{-}CH_2\text{-}OH$$

După unele cercetări (K.Eiter şi colaboratorii, 1967), omologul său superior, 12-acetoxi-9-*cis*-octodecen-1-ol, are activitate atractantă mai pronunţată.

Substanţele au fost separate din abdomenul femelelor din aceeaşi specie de fluturi.

Atractanţii sexuali ai masculilor fluturilor din specia *Agrotis fucosa* sunt esteri ai acidului acetic cu decenoli (izomeri de poziţie):

$$CH_3\text{-}(CH_2)_3\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_3\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CO\text{-}CH_3$$

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_5\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CO\text{-}CH_3$$

Izomerii *cis* ai acestor decenilacetaţi în amestec prezintă proprietăţi bioactive.

Din secreţia albinei regine (matca) *Apis mellifica* s-a izolat substanţa de matcă (substanţa reginei), care are rolul de a interzice albinelor lucrătoare să construiască celulă-matcă. Absenţa acestei substanţe determină albinele să înceapă foarte repede construcţia celulei-matcă.

Substanţa de matcă este acidul 2-*trans*-decen-9-on-1-carboxilic, cu structuri *cis* şi *trans*:

$$\begin{matrix} & & H & & COOH \\ & & & C{=}C & \\ CH_3{-}CO{-}(CH_2)_5 & & & & H \end{matrix} \qquad \begin{matrix} & & H & & H \\ & & & C{=}C & \\ CH_3{-}CO{-}(CH_2)_5 & & & & COOH \end{matrix}$$

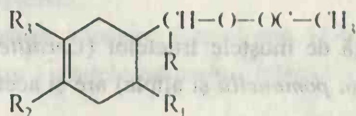
Pe cale de sinteză s-a obţinut izomerul *cis*, care este bioactiv.

Masculii ploşniţei de apă conţin în abdomenul lor două tubuşoare cu un lichid transparent, cu miros specific, care ademeneşte femelele. Acest atractant sexual este 2-*trans*-hexenil-1-acetat:

$$\begin{matrix} CH_3{-}CH_2{-}CH_2 & & H \\ & C{=}C & \\ H & & CH_2{-}OCO{-}CH_3 \end{matrix}$$

În frunzele verzi s-au identificat 3-*cis*-hexenolul şi 2-*trans*-hexenalul (alcoolul şi aldehida din frunze) care se consideră atractanţi de nutriţie pentru larve şi viermi. Aceşti compuşi prezintă şi acţiuni de excitare a unor insecte în vederea eliberării atractantului sexual caracteristic.

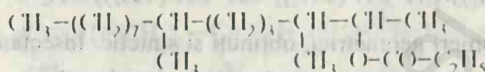
Se cunosc feromoni și cu structură ciclică, derivați de ciclohexenilalchil - carbinol acetat, cu următoarea structură:



Activitate mai ridicată manifestă următorii produși:

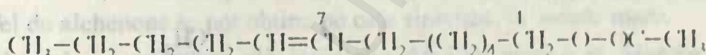
$R = CH_3$, $R_1 = R_2 = R_3 = H$; $R = -C_2H_5$, $R_1 = R_2 = R_3 = H$ și $R = -C_2H_5$, $R_1 = R_3 = H$ iar $R_2 = -CH_3$

Se cunoaște și un feromon a cărui moleculă este saturată, fiind un ester al acidului propionic cu 3,7-dimetil-pentadecan-2-ol:



Produsul are proprietăți atractante pentru masculii din specia *Diprion similis* (C. Longhurst și colaboratorii 1980).

În cadrul Institutului de Chimie Cluj-Napoca, cercetătorul K i l k e C i u p e a obținut pe cale de sinteză izomeri geometrici ai feromonilor cu 10, 12 și 14 atomi de carbon, cu o dublă legătură în poziția 7. Produșii sunt sub formă de esteri, gruparea alcoolică fiind în poziția 1, ca de exemplu:



Acetat de 7-dodecen-1-ol

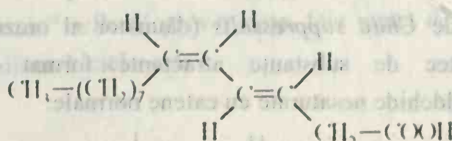
Autorul a obținut feromoni, omologi ai produsului de mai sus, folosind mai multe variante (teză de doctorat, 1984). S-au obținut circa 25 de noi produși, unii și din seria terpenelor.

6.2.2. Feromoni cu două legături duble

Așa cum s-a arătat în subcapitolul 6.2., primul feromon izolat a fost bombykolul, în a cărui structură chimică există două duble legături în sistem conjugat.

Produsul este elaborat imediat ce apare fluturele viermelui de mătase. Dintre cei patru izomeri geometrici, izomerul 10-*trans*-12-*cis* este cel mai activ, fără ca ceilalți 3 izomeri să fie lipsiți total de activitate. Bombykolul s-a obținut și sintetic.

Femela gândacului din specia *Attagenus megatoma* elaborează acidul 3,5-tetradecadien-1-oic, cu structura:



Din 13 000 gândaci femele s-au putut separa 4 mg produs pur, care manifestă acțiune atractantă față de masculi. Produsul sintetic are o activitate inferioară celui natural.

Acțiune atractantă față de muștele fructelor (*Ceratites capitata*, *Dacus dorsalis*, *Dacus cucurbital*, *Carpocapsa pomonella* și altele) are și acetatul de 5,9-tetradecadien-1-ol, amestec de izomeri *cis-trans*:



$$CH_3\text{-}(CH_2)_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_3\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CO\text{-}CH_3$$

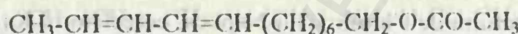
Insecta-femelă numită *Pectinophora gossypiella* produce un atractant de sex, care corespunde produsului 7,11-hexadecadienil acetat:



$$CH_3\text{-}(CH_2)_3\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_5\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CO\text{-}CH_3$$

Produsul are izomeri geometrici, obținuți și sintetic. Insecta din această specie este un dăunător cunoscut, care produce o gravă maladie bumbacului.

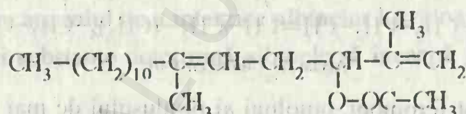
Femela din specia insectelor *Laspeyresia medicaginis* și *Laspeyresia nigricana* produce un atractant sexual, cu următoarea structură chimică:



$$CH_3\text{-}CH{=}CH\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_6\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CO\text{-}CH_3$$

acetat de 8,10-dodecandien-1-ol

Un alt feromon atractant este produs de insecta *Pseudococcus comostoki*, care din punct de vedere chimic este acetat de 2,6-dimetil-1-5-heptadien-3-ol:



$$CH_3{-}(CH_2)_{10}{-}\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}{=}CH{-}CH_2{-}\underset{\displaystyle O{-}OC{-}CH_3}{\underset{|}{CH}}{-}\overset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CH_2$$

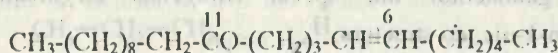
Experimetal s-a dovedit că și produsul sintetic este bioactiv.

6.2.3. Feromoni cu grupă carbonilică

Reprezentanții din această categorie de feromoni se caracterizează prin prezența funcției aldehidice sau cetonice în structura moleculei indivizilor chimici.

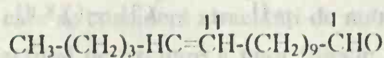
Un reprezentant foarte simplu este undecanalul elaborat de fluturele mascul *Galleria mallonella*: $CH_3\text{-}(CH_2)_9\text{-}CHO$

Fluturele pădurilor de pin din America, *Orgia pseudosugata*, elaborează feromonul de sex, care din punct de vedere chimic este 6-heneicosen-11-ona

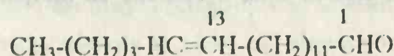


$$CH_3\text{-}(CH_2)_8\text{-}CH_2\text{-}\overset{11}{C}O\text{-}(CH_2)_3\text{-}CH{=}\overset{6}{C}H\text{-}(CH_2)_4\text{-}CH_3$$

Insecta-femelă de *Chilo suppressalis* (dăunător al orezului din zonele asiatice) elaborează un amestec de substanțe atractante format din 11-hexadecenal și 13-octodecenal, două aldehide nesaturate cu catene normale:



$$CH_3\text{-}(CH_2)_3\text{-}HC{=}\overset{11}{C}H\text{-}(CH_2)_9\text{-}\overset{1}{C}HO$$



$$CH_3\text{-}(CH_2)_3\text{-}HC{=}\overset{13}{C}H\text{-}(CH_2)_{11}\text{-}\overset{1}{C}HO$$

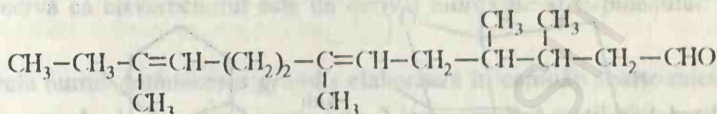
Ambii produși bioactivi s-au obținut și sintetic (1975).

11-Hexadecenalul manifestă proprietăți de ademenire și pentru fluturii *Orthosia incerta* și *Argyresthia ephippieella*.

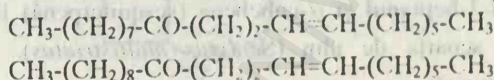
Un amestec de aldehide izomere format din 11-hexadecenal și 9-hexadecenal constituie un atractant pentru viermele tutunului (*Heliothis virescens*) și pentru fluturele numit *Heliothis zea*.

Proprietăți atractante prezintă și alte aldehide nesaturate cum sunt: 11-tetradecen-1-ol și 3,4,7,11-tetrametiltrideca-6-10-dien-1-ol.



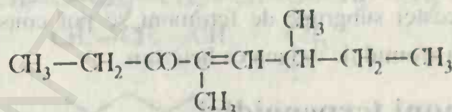


Se cunosc reprezentanți ai feromonilor care au gruparea cetonică în strutura moleculară. Un exemplu îl oferă două cetone nesaturate, cu funcție cetonică în poziția 11, iar dubla legătură în poziția 7:



Astfel de alchenone se pot obține pe cale sintetică, în număr mare.

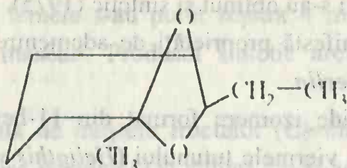
În glandele mandibulare ale insectelor *Manica mutica* și *Manica bradley* s-au identificat feromoni de alarmă, care din punct de vedere chimic sunt cetone nesaturate, cu catena ramificată. Un reprezentant important este manicona, denumită științific 4,6-dimetil-4-octen-3-onă:



Produsul sintetic se obține ușor prin condensarea aldolică a 2-metil-butenalului cu 3-pentanona.

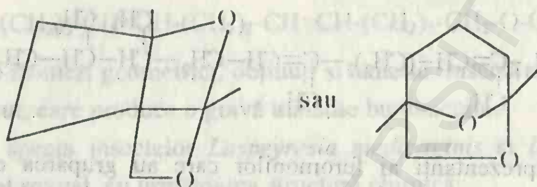
6.2.4. Feromoni cu legături acetalice intramoleculare

Din această subgrupă de feromoni se cunosc puțini reprezentanți. De exemplu, unul a fost izolat din femela gândacului de scoarță, *Dendroctonus brevicomis*. Denumirea produsului de „brevicomin" reflectă proveniența. Din punct de vedere chimic, produsul este 7-etil-5-metil-6,8-dioxa-biciclo-octan:

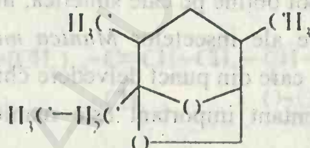


Produsul există sub două conformații, ambele prezente în natură, izolate de R.M.Silverstein și colaboratorii (1968).

Din masculul gândacului *Dendroctonus brevicomis* s-a separat compusul „frontalin", care este 5,5-dimetil-6,8-dioxabiciclo-octan:



Produsul numit α-multistriatin, respectiv 2,4-dimetil-5-etil-6,8-dioxabiciclo-octan, în amestec cu 4-metil-3-heptanul și α-cubebenă (sesquiterpenă) formează un atractant pentru gândacul din scoarța de ulm (*Scolytus multistriatus*). α-Multistriatinul are următoarea structură chimică:

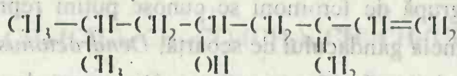


Reprezentanții acestei subgrupe de feromoni se pot considera ca fiind compuși organici heterociclici, cu atomul de oxigen ca heterom.

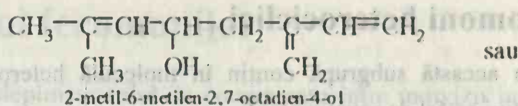
6.2.5. Feromoni terpenoidici

Unii reprezentanți ai feromonilor terpenoidici au și grupări alcoolice, primare sau secundare, grefate pe scheletul terpenic.

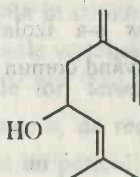
Din excrementele gândacului californian *Ips comfusus* s-a izolat feromonul atractant pentru femelă numit ipsenol, care este 2-metil-6-metilen-7-octen-4-ol:

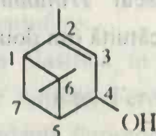


Pe lângă ipsenol s-a izolat ipsdienolul și *cis*-verbenolul, cu următoarele structuri, ultimul fiind o terpenoidă ciclică:



2-metil-6-metilen-2,7-octadien-4-ol

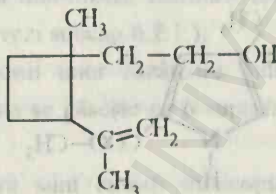




Ipsdienol **Cis-verbenol**

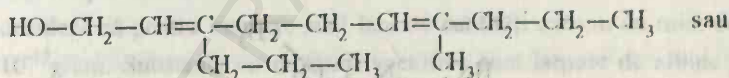
Se observă că cisverbenolul este un derivat hidroxilic al α-pinenului: α-pinen-4-ol.

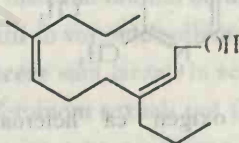
Fluturele numit *Anthonomus grandis* elaborează în cantități foarte mici feromonul cunoscut sub numele de grandisol, care este 2-izopropenil-2-metil-ciclobutil-etanol, cu următoarea structură chimică:



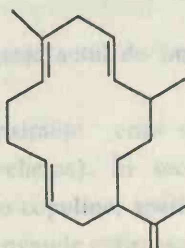
Și acest produs este o diterperoidă.

Produsul 7-metil-3-*n*-propil-2,6-decadien-1-ol este feromonul sexual al fluturelui *Laspeyresia pomonella*:





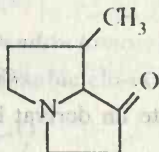
Din categoria feromonilor terpenici face parte și hidrocarbura macrociclică (diterpenină) elaborată de specia termitelor *Nautitermes exitosus*; compusul organic se numește nocembrene A:



6.2.6. Feromoni heterociclici

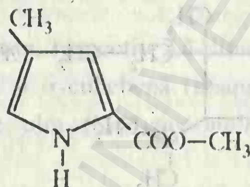
Feromonii din această subgrupă conţin în moleculă heterocicli cu azot şi cu oxigen. Se cunosc puţini astfel de reprezentanţi.

Din fluturele mascul *Trinidad Lycorea ceres* s-a izolat (1966) o cetonă heterociclică, care este alcătuită din două pentacicluri, având comun atomul de azot; este o pirolidinonă:



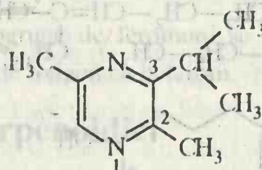
Acest compus a fost izolat mai târziu (1979) şi din alte specii de fluturi: *Danaus gilippus berenice*, *Danaus chrysippus* etc.

Insecta *Atta cephalotes* elimină în cantităţi extrem de mici feromonul cu structura:

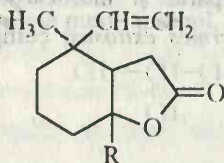


4-Metil-pirol-2-carboxilat de metil

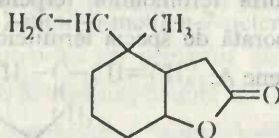
Masculii unor specii de viespi elimină feromoni volatili, care prin mirosul lor au rol de atractanţi sexuali pentru femele. Reprezentantul cunoscut din anul 1969 este 2,5-dimetil-3-izopropil-pirazina:



Feromonii heterociclici cu oxigen ca heteroatom sunt anastrephinul şi epianastrephinul elaboraţi de musca Carriobeană şi Mexicană:



Anastrephin



Epianastrephin

6.3. Rolul feromonilor

Feromonii îndeplinesc rolul de comunicare între indivizii unei specii, mai ales a celor care își duc viața în comun. Ei servesc ca mijloc de comunicare nu numai pentru insecte ci și pentru unele vertebrate și specii de mamifere.

După acțiunile lor, feromonii s-ar putea clasifica în feromoni de alarmă, de recrutare, de reproducere, de recunoaștere și de inițiere. Feromonii de alarmă în mod obișnuit fac cunoscut un pericol. S-au pus în evidență feromoni de alarmă la mai multe specii de pești.

Broasca din specia *Bufo vulgaris* elaborează o substanță cu structură steroidă, care induce spaimă altor indivizi din colectivitate.

În urina șoarecilor și a șobolanilor s-a pus în evidență existența unor feromoni de alarmă.

Feromonii unor insecte semnalizează apariția unui străin în sediul colectivității lor. De asemenea, feromonii pot să mobilizeze membrii comunității pentru acțiuni comune (cazul comunităților de albine; vezi subcap.6.2.1.).

Se consideră că feromonii unor rozătoare induc un instinct de dispersare a colectivității, atunci când aceasta se găsește pe o suprafață prea mică sau apar dificultăți în procurarea hranei.

Feromonii de recrutare sunt lansați în scopul mobilizării colectivității spre sursele de hrană. Ei marchează drumul ce îl vor urma indivizii singulari pentru a ajunge la hrană. Acești feromoni sunt lansați de furnici și termite. Acțiunea de lansare a acestor substanțe de recrutare este practicată de către toți indivizii colectivității, deoarece ele se evaporă într-un timp foarte scurt.

Se consideră că pentru marcare sunt lansate cantități extrem de mici de feromoni, de ordinul 10^{-13}g/cm. Substanțe cu mirosuri specifice sunt lansate de albine pe anumite distanțe la intervale de 2-3 m, marcând drumul de întoarcere de la o sursă de hrană, astfel încât alți indivizi ai colectivității se vor putea orienta și vor repeta acțiunea de marcare.

Feromonii de reproducere sunt lansați în scopul declanșării instinctului sexual în vederea împerecherii. Acești feromoni sexuali pot fi elaborați de masculi, dar și de către femele. Este necesară depășirea unui anumit prag al concentrației, astfel încât acțiunea atractantă să-și atingă scopul.

Feromonii sexuali lansați de o insectă femelă pot atrage numai masculii speciei sale. Când masculul se apropie de femelă, el lansează o substanță care stimulază împerecherea.

Astfel de feromoni ce pregătesc actul de împerechere lansează multe specii de fluturi, muște, gândaci, albine.

Se consideră că și unele maimuțe emit substanțe cu proprietăți afrodisiace (substanțe care stimulează împerecherea). În secreția vaginală a maimuțelor s-au identificat astfel de substanțe numite copuline; apariția lor este condiționată de prezența hormonilor estrogeni. Maimuțele cu ovarele extirpate nu atrag masculii.

Feromonii de recunoaştere se găsesc în urina mamiferelor sau sunt secretaţi de glande specifice acestui scop. Se consideră că recunoaşterea puiului de către mamă, în cazul mai multor vertebrate, se poate face datorită unei substanţe chimice. În cazul unei specii de cerbi s-a identificat chimic un feromon, care ajută recunoaşterea lor de către femelă.

Acţiunea feromonilor se transmite indivizilor aceleiaşi specii pe calea sistemului nervos, ceea ce s-a demonstrat experimental.

S-a dovedit că în cazul vertebratelor există în mucoasa nazală formaţiuni specifice, cu proprietăţi de a percepe prezenţa diferitelor tipuri de feromoni. Senzaţiile sunt transmise altor centre nervoase care determină apariţia unui răspuns.

Feromonii de iniţiere prezintă importanţă în reglarea funcţiilor fiziologice ale organismelor care au proprietatea de a-i identifica şi recepţiona. Acest tip de feromoni sunt elaboraţi atât de masculi, cât şi de femele.

Feromonii de iniţiere sunt implicaţi în procesul de maturizare sexuală şi de reproducere. Exemple convingătoare în acest sens se cunosc în cadrul colectivităţilor de insecte, termitelor sau chiar la unele mamifere.

Astfel, într-un stup de albine, dacă regina produce o anumită substanţă (acid decanoic, care este un feromon), este oprită dezvoltarea ovarelor albinelor lucrătoare şi dispare tendinţa lor de a construi celule.

O situaţie deosebit de remarcabilă apare în colectivităţile de termite, unde există un singur mascul reproducător şi o singură femelă. Feromonii elaboraţi de această pereche inhibă maturizarea sexuală a tuturor indivizilor din colectivitate. Dacă nu mai apar aceşti feromoni, prin dispariţia unuia dintre producători, potenţialul rămas produce un feromon specific, iniţiator, care activează dezvoltarea unui alt reproducător, care îl va înlocui pe cel dispărut.

Rolul feromonilor iniţiatori a fost urmărit la şoareci, constatându-se o serie de aspecte care permit câteva generalizări: când o femelă cu sarcină în fază incipientă se găseşte mai multă vreme lângă un mascul al cărui miros este diferit faţă de al fostului partener, oul fecundat este eliminat şi femela se pregăteşte pentru a recepţiona o nouă sarcină, mucoasa uterină permiţând fixarea altui ou fecundat. De asemenea, atunci când femela se găseşte în apropierea urinei masculului, mirosul urinei induce pregătirea mucoasei uterine pentru nidare.

Se poate considera că între feromoni şi hormoni există o anumită interdependenţă, primii influenţând sistemul endocrin, iar ultimii induc eliberarea feromonilor. Această interdependenţă pare mai sigură în procesele de reproducere.

7 FITOHORMONI

7.1. Noțiuni introductive

Fitohormonii alcătuiesc o categorie de compuși organici diferiți ca structură chimică, care în cantități extrem de mici au proprietatea de a regla procesele biologice ce se petrec în organismele vegetale.

Acești compuși sunt activi numai în celula vegetală vie, unde coordonează întregul proces metabolic implicat în dezvoltarea și maturarea plantelor, prin acțiuni stimulatoare, inhibitoare sau retardante.

Prezența în plante a unor substanțe cu proprietăți deosebite, care intervin în procesul creșterii acestora, a fost bănuită încă din anul 1675 de către medicul italian Marcello Malpighi (1628-1694), fondatorul anatomiei microscopice.

Au fost emise și alte ipoteze privind existența unor factori activi în creșterea plantelor, dintre care se cere menționată părerea lui Charles Robert Darwin (1809-1882) despre prezența unui *stimulus*, care circulă în plante.

Din cercetările experimentale efectuate pe caleoptile (Boysen-Jensen, 1910-1913) privind existența unor substanțe bioactive, s-a dedus că acestea trebuie să fie responsabile pentru fototropism (A.Paal, 1919), având și o acțiune de stimulare a creșterii (A. Södling, 1923; N. Cholodnâi, 1927; F. W. Went, 1928).

Prin cercetări ulterioare, F. Kögl a descris izolarea din plante a două substanțe stimulatoare a creșterii pe care le-a denumit *auxine* (1933-1934), a căror prezență fusese dovedită de F. W. Went (1926).

Termenul de *hormon* a fost introdus pentru prima dată în fiziologia vegetală de către Fiiting (1909). Ținând seama că aceste substanțe își manifestă proprietățile biologice numai în plante, în cantități extrem de mici, comparabile cu ale hormonilor din regnul animal, ele au căpătat denumirea de *fitohormoni*, stimulatori sau reglatori de creștere a plantelor.

După cunoașterea structurii lor chimice, biostimulatorii vegetali naturali au fost preparați și sintetic și se folosesc în scopul creșterii producției agricole.

În clasa fitohormonilor sunt incluse trei categorii de produși naturali sau sintetici: substanțe stimulatoare, substanțe inhibitoare și substanțe retardante.

7.2. Substanțe stimulatoare

În categoria substanțelor stimulatoare a creșterii vegetalelor sunt incluse trei grupe de compuși organici: auxine, gibereline și citochinine.

7.2.1 Auxine

Generalități. Auxinele sunt substanțe biologic-active identificate în plante de către N. G. Holodnâi și Went (1926-1928). Au fost găsite și în urina umană.

În organismele vegetale, auxinele se găsesc în cantitate mai mare în organele de creștere: muguri, frunze tinere, vârfuri, semințe nemature, polen, rădăcini etc.

În organele vegetale ce se găsesc în creștere există două tipuri de auxine:

– auxine libere, care au proprietatea de a difuza ușor când se găsesc în prezența unui solvent potrivit; aceste auxine se găses într-un procent de 30% din total;

– auxine legate, care nu pot difuza și în consecință nu pot fi extrase cu solvenți organici.

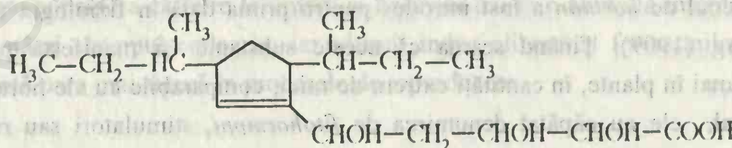
Se consideră că auxinele ce nu pot difuza sunt legate de suporturi proteice, care se găsesc în celule. Pentru eliberarea lor de pe suporturi este necesară acțiunea enzimelor proteolitice.

Pe cale experimentală, s-a constatat că auxinele se găsesc în organele plantelor sub forma unor amestecuri complexe, alcătuite din substanțe stimulatoare, reglatoare sau inhibitoare. Astfel de complexe s-au identificat în semințele și în frunzele de măr, în pulpa merelor, în căpșuni etc.

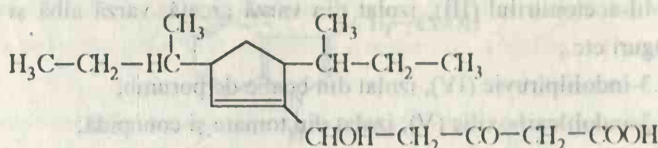
Structură chimică și proprietăți. În anul 1933, F. Kögl și colaboratorii au izolat din urina umană o substanță activă, cu caracter acid, căreia i-au dat numele de auxina A. Mai târziu, aceiași cercetători au izolat din organe vegetale (mai ales din uleiul germenilor de porumb) o altă substanță bioactivă, având de asemenea caracter acid, puțin diferită de auxina A, pe care au numit-o auxina B.

În anul 1934, Kögl și colaboratorii au izolat din organe vegetale o altă substanță bioactivă, având 50% din activitatea auxinei A și au denumit-o heteroauxină. Heteroauxina a fost identificată ca fiind acidul 3-indolilacetic, compus organic bine cunsocut și obținut pe cal de sinteză, încă din anul 1904.

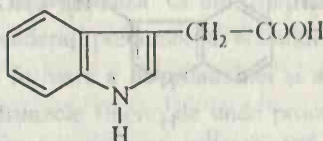
Structurile chimice ale acestor compuși biologic-activi sunt următoarele:



Auxina A (acid auxentriolic)



Auxina B (acid auxenolonic)



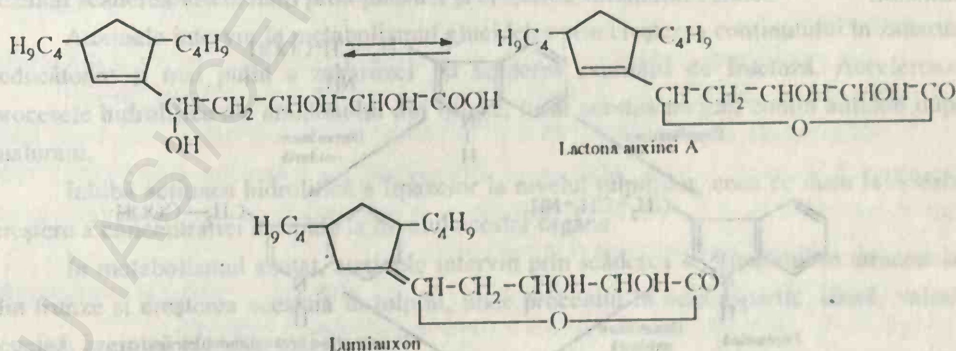
Heteroauxina (acid 3-indolilacetic)

Auxina A ste o substanță cristalină care se topește la 196°C. Este solubilă în alcool și eter; nu se dizolvă în apă, eter de petrol, benzen. Sub acțiunea agenților deshidratanți auxina A trece în auxina B. Este solubilă în soluții acide, dar se descompune în mediu alcalin.

Auxina B este un acid β-cetonic, care diferă de auxina A prin dispariția grupărilor de alcool secundar din pozițiile α și β din catena cu 5 atomi de carbon și formarea grupării cetonice la carbonul β din această catenă. Este stabilă la lumină, dar se distruge repede în mediu acid sau alcalin.

Acidul β-indolilacetic se prezintă sub formă de cristale incolore ce se topesc la 164...165°C. Este greu solubil în apă, dar se dizolvă în alcool, eter, acid acetic; nu se dizolvă în cloroform. Acidul indolilacetic este foarte răspândit în plantele inferioare și superioare. A fost identificat în fungi și drojdii, în boabe de grâu, de porumb, în varză creață, în rădăcini de grâu, în coleoptile de ovăz, apoi în soia, spanac, tomate etc.

Prin acțiunea razelor ultraviolete, auxinele își pierd proprietățile biologice. Are loc formarea unei lactone între gruparea carboxilică și gruparea alcoolică din poziția δ, care se transformă repede în produsul biologic inactiv numit lumilactona auxinei A sau lumiauxon, după următoarea schemă:



Dintre substanțele înrudite cu heteroauxina, care au proprietatea de a stimula creșterea plantelor, au mai fost găsite în vegetalele următoare:

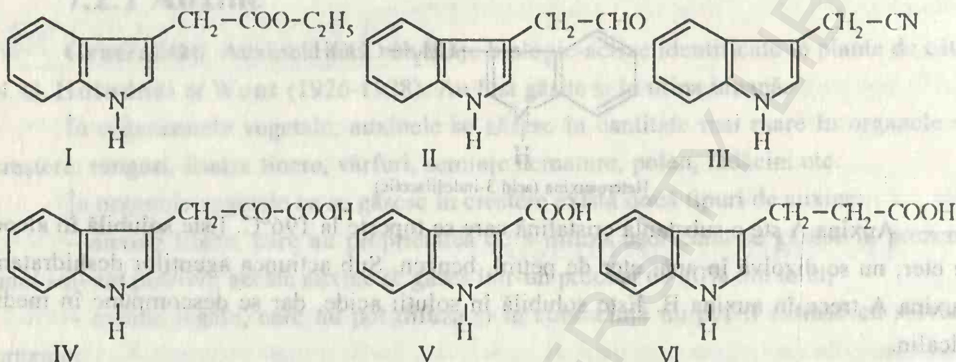
– esterul etilic al acidului indolilacetic, izolat din boabele de porumb necoapte (I);
– 3-indolil-acetaldehida, izolată din conopidă (II);

– 3-indolil-acetonitrilul (III), izolat din varză creață, varză albă și roșie, tomate, sâmburi de struguri etc.;

– acidul 3-indolilpiruvic (IV), izolat din boabe de porumb;

– acidul 3-indolilcarboxilic (V), izolat din tomate și conopidă;

– acidul 3-indolilpropionic (VI), izolat din conopidă;

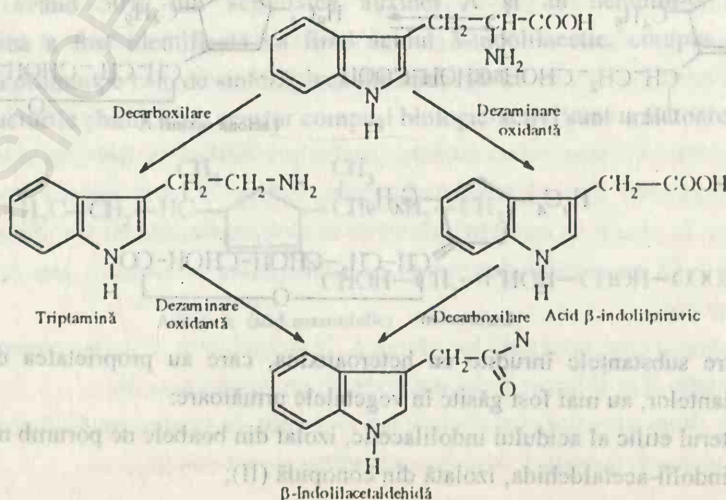


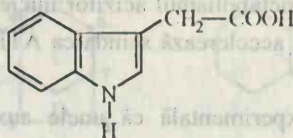
Pe cale de sinteză au fost obținuți peste 100 de compuși care au proprietăți de stimulare a creșterii plantelor, dintre care trebuie menționați: acidul 3-indolilbutiric, acidul 1-naftilacetic, acidul 4-clor-3-indolilacetic, acidul 2,4-diclorfenoxiacetic și alții. În concentrație mică, acești compuși se folosesc în practica agricolă ca substanțe de creștere.

Biosinteza heteroauxinei. Pe cale experimentală s-a stabilit că triptofanul este precursorul heteroauxinei și al altor derivați indolici, biologic-activi. Rolul triptofanului în procesul de biosinteză a auxinelor a fost pus în evidență nu numai la plantele superioare, ci și la bacterii, ciuperci, inclusiv la nivelul celulelor animale.

Heteroauxinele endogene rezultă din triptofan, prin procese enzimatice, apărând ca produși intermoleculari triptamina, acidul β-indolilpiruvic și β-indolilacetaldehida. Se înțelege că fiecare transformare este catalizată de o enzimă specifică.

Biosinteza heteroauxinei din triptofan se poate prezenta schematic în modul următor:





Heteroauxină

Din această schemă se interpretează că din triptofan apar şi alţi compuşi indolici bioactivi, iar aceştia pot fi consideraţi precursori ai acidului β-indolilacetic.

Procesul biochimic de formare a heteroauxinei şi a celorlalte auxine naturale se petrece cu preponderenţă în frunzele tinere, de unde produsele bioactive migrează spre organele de creştere (tulpini, lăstari, muguri, vârfuri). Migrarea compuşilor bioactivi se face sub forma inactivă de proauxină, auxina fiind legată de anumite proteine. Sub acţiunea enzimelor proteolitice, substanţele biologic-active se eliberează de proteine şi devin active, manifestându-şi acţiunea biologică asupra organului la nivelul căruia s-a eliberat.

Rolul biologic al auxinelor. Auxinele manifestă multiple acţiuni biologice în organismele plantelor, legate de creştere, dezvoltare şi metabolism. S-a stabilit că, pentru a fi activă, substanţa trebuie să îndeplinească următoarele condiţii structurale:

– să conţină în moleculă un ciclu cu dublă legătură;

– să existe o catenă laterală grefată pe ciclu, catenă care să aibă o grupare carboxilică sau o altă grupare ce poate trece uşor în carboxil (-CHO; -CN; -COO-R);

– între ciclu şi gruparea carboxilică să existe cel puţin un atom de carbon

Prezenţa auxinelor determină alungirea membranelor celulare şi stimulează depunerea de noi substanţe, ceea ce duce la îngroşarea membranelor; sunt influenţate permeabilitatea şi elasticitatea acestora. Stimulează activitatea enzimelor specifice care au roluri importante asupra proprietăţilor fizice ale peretelui celular.

În concentraţii scăzute, auxinele stimulează diviziunea celulelor, iar la concentraţii mai ridicate apare alungirea lor. Absorbţia apei şi ionilor în celulă creşte, având ca rezultat scăderea viscozităţii protoplasmei şi creşterea volumului celulei.

Auxinele intervin în metabolismul glucidelor prin creşterea conţinutului în zaharuri reducătoare şi mai puţin a zaharozei şi scăderea cantităţii de fructoză. Accelerează procesele hidrolitice ale amidonului din frunze, încât acestea nu mai conţin amidon după maturare.

Inhibă acţiunea hidrolitică a lipazelor la nivelul tulpinilor, ceea ce duce la o slabă creştere a concentraţiei în lipide la nivelul acestor organe.

În metabolismul azotat, auxinele intervin prin scăderea conţinutului în aminoacizi din frunze şi creşterea acestuia în tulpini, unde procentul în acid aspartic, lizină, valină, leucină, arginină etc. este mai mare.

Auxinele joacă rol important în sinteza unor vitamine în plante (vitaminele C, B_1, K, acid nicotinic), determină intensificarea unor coenzime în tulpini şi scăderea acestei activităţi în frunze. De asemenea, determină creşterea procentului în fosfaţi anorganici în tulpini şi rădăcini, concomitent cu scăderea acestui procent în frunze.

Auxinele intervin și în metabolismul acizilor nucleici, stimulează activitatea unor enzime (fosfataze, fosforilaze), accelerează scindarea ATP-ului, crescând concentrația în ADP și fosfor anorganic.

S-a dovedit pe cale experimentală că unele auxine pot accelera sau întârzia procesul de germinare a semințelor. Intervin în procesul de formare și alungire a rădăcinilor și tulpinilor. În concentrații mai ridicate pot determina apariția unor deformații, a unor țesuturi noi și formarea de tumori.

Auxinele au efecte importante asupra înrădăcinării butașilor, a transplantării puieților și arborilor; vindecă rănile pomilor și arborilor, stimulează procesul prinderii altoiului de portaltoi, influențează procesul de formare a mugurilor și de înflorire. S-a pus în evidență faptul că auxinele care stimulează creșterea tulpinilor inhibă rolul auxinelor în procesele de fecundare și formare a fructelor. De asemenea, căderea fructelor, frunzelor și îmbătrânirea țesuturilor vegetale sunt influențate în mare măsură de prezența lor.

7.2.2. Gibereline

Generalități. Giberelinele constituie o grupă de compuși organici cu structură chimică înrudită, cu proprietăți fitohormonale puțin diferite de ale auxinelor.

Descoperirea giberelinelor aparține fitopatologului japonez E. Kurosawa, care în 1926 a observat că ciuperca *Gibberella fujikuroi* produce plantelor tinere de orez boala numită „bakanae". Aceasta constă într-o creștere rapidă, formându-se tulpini alungite și subțiri, frunze mari, dar înguste și subțiri, de culoare mai deschisă, înflorire timpurie. Kurosawa a observat că efectul „bakanae" este produs și de filtratul liber de celule al ciupercii respective. Dintr-un astfel de filtrat a fost izolată, mai târziu (1939), de către T.Yabuta și T. Hayashi o substanță cristalizată numită giberelina A. Această substanță a fost apoi obținută și la scară industrială pe cale biotehnologică.

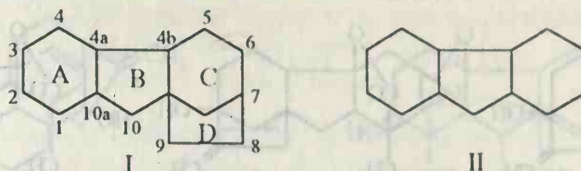
Ulterior s-a demonstrat că în mediile de cultură de *Gibberella fujikuroi* există patru compuși înrudiți structural: acidul giberelic, giberelina A_1, giberelina A_2 și giberelina A_4. S-a constatat că acești compuși intervin în concentrații foarte mici în procesele fiziologice ale plantelor.

Prin modificarea condițiilor de cultură ale aceleiași ciuperci s-au izolat din mediile de cultură alte două gibereline: A_7 și A_9 (B.E. Cross și colaboratorii, 1960-1962).

Giberelinele au fost găsite apoi și în plante superioare: fasole, dovleac, boabe încolțite de mazăre. J. Mac Millan și colaboratorii au izolat din fasole (1958-1960) giberelinele: A_5, A_6 și A_8. Au fost identificate și în coleoptilele de grâu, semințe de salată, alge verzi și brune, nuci de cocos și în mușchi.

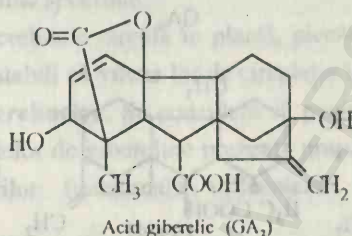
În prezent se cunosc 52 de gibereline, notate prin GA_1......GA_{52}. Dintre acestea, giberelina A_3 a dovedit cea mai ridicată acțiune de stimulare a creșterii.

Structura chimică a giberelinelor. Giberelinele pot fi considerate ca derivați ai hidrocarburii tetraciclice saturate numită giban (I), un compus ce provine teoretic de la perhidrofluoren (II):



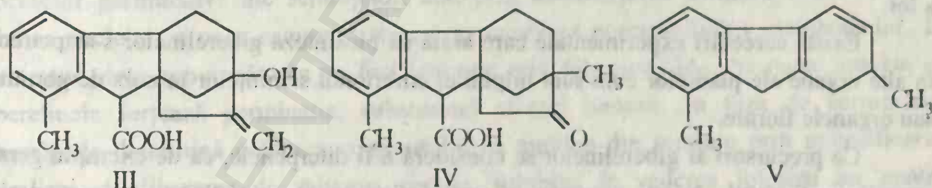
În structura giberelinelor se găsesc grupări metilice, metilenice, carboxilice și hidroxilice legate de molecula de giban, care poate avea și duble legături; de asemenea, apare și un ciclu lactonic în poziția 1-4a, care poate fi considerat al V-lea ciclu.

Compusul cel mai studiat și mai activ este acidul giberelic, numit inițial giberelina X sau giberelina A_3. Structura lui chimică și a altor gibereline a fost stabilită de B. E. Cross și colaboratorii (1959) și de S. Masamune (1961); aceasta este următoarea:

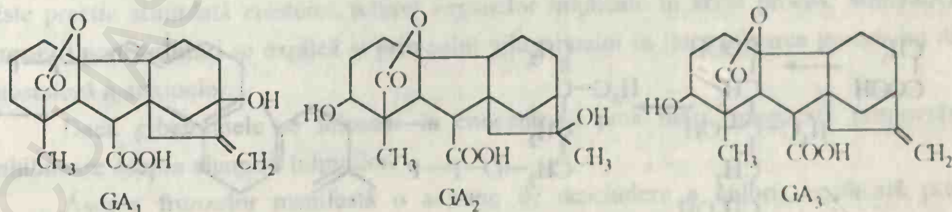


Acid giberelic (GA_3)

Acidul giberelic este o substanță albă, cristalină, ce se topește la 233...235°C. Este puțin solubil în apă și în eter; se dizolvă în metanol, etanol, în acetonă și în soluții de acetat și dicarbonat de sodiu. Are slabă stabilitate chimică. În mediu acid, la 20°C, se transformă în acid allogiberic (III) care, prin încălzire la 100°C, se izomerizează la acid giberic (IV). Acizii allogiberic și giberic prin dehidrogenare se transformă în hidrocarbura numită geberenă (V):



Structurile chimice ale diferitelor gibereline se deosebesc prin poziția grupărilor carboxilice sau hidroxilice și prezența dublei legături. Exemplele următoare confirmă aceste deosebiri:



GA_5 GA_6 GA_7

GA_8 GA_9 GA_{10}

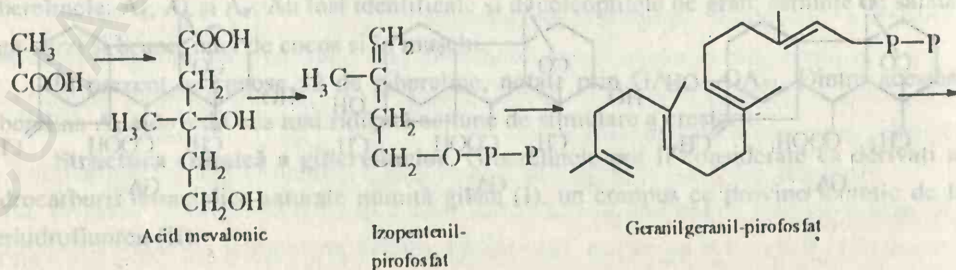
GA_{11} GA_{12} GA_{13}

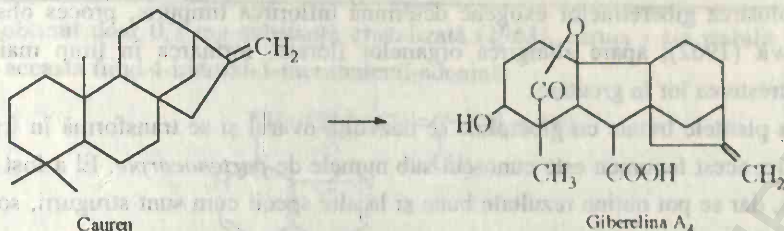
Toate aceste gibereline se găsesc în natură, sunt optic active şi au puncte de topire caracteristice; prezintă activitate biologică.

Biosinteza giberelinelor. După unele păreri, biosinteza giberelinelor în plantele superioare ar avea loc în cloroplastele frunzelor tinere, membranele acestor celule fiind permeabile pentru enzimele giberelinelor care intervin în procesele metabolice de formare a lor.

Există cercetări experimentale care arată că biosinteza giberelinelor s-ar petrece şi în alte organe ale plantelor cum sunt tulpinile, embrionul seminţelor în curs de germinare sau organele florale.

Ca precursori ai giberelinelor se consideră a fi diterpenele, ca de exemplu geranil-geranil-pirofosfatul. Aceşti compuşi se pot cicliza în prezenţa unor enzime specifice (sintetaze), urmând procese de hidroxilare şi formare de gibereline. Un mecanism chimic al formării giberelinelor plecând de la acidul acetic şi acidul mevalonic (acid 3-metil-3,5-dihidroxipentanoic) s-ar putea reprezenta, foarte general, în modul următor:





Este puțin lămurit mecanismul chimic și enzimatic mai detaliat al acestor transformări.

S-a pus în evidență că biosinteza giberelinelor este stimulată de lumina roșie, care determină o creștere notabilă a conținutului de acizi giberelici în țesuturile vegetale; este necesară și prezența unor enzime specifice.

După apariția lor, giberelinele circulă în plantă, plecând de la locul de sinteză în mai multe direcții. S-a putut stabili că viteza lor de circulație în plantă este de 5 mm/oră.

Rolul biologic al giberelinelor. Se consideră că pentru activitatea biologică este necesară în structura moleculelor de gibereline prezența grupării lactonice și a grupărilor hidroxilice. Poziția grupărilor funcționale influențează de asemenea activitatea giberelinelor.

Activitatea biologică a acestor compuși se manifestă stimulativ asupra multor procese fiziologice care se petrec în plante.

Una din acțiunile principale ale giberelinelor constă în stimularea elongației celulare și mărirea volumului celulei; concomitent se stimulează și procesul de diviziune celulară.

Pe cale experimentală, s-a dovedit că giberelinele au un rol stimulator asupra proceselor germinative ale semințelor, atât prin intensificarea formării ribozomilor, a acizilor nucleici, a unor enzime, cât și prin creșterea permeabilității membranelor. În acest sens, date convingătoare au fost obținute prin folosirea GA_3. Se poate aprecia că giberelinele forțează germinația, substituind efectul luminii. În faza de germinație, giberelinele determină scăderea conținutului de amidon din semințe prin intensificarea hidrolizei și eliberarea de zaharuri simple, solubile, în vederea folosirii lor pentru dezvoltarea plantei.

În procesele de stimulare a creșterii, efectele giberelinelor se concretizează prin alungirea tulpinilor, creșterea masei foliare și schimbarea habitusului general al plantelor. Este practic stimulată creșterea tuturor organelor implicate în acest proces. Stimularea creșterii unor țesuturi se explică și prin rolul giberelinelor în intensificarea procesului de biosinteză a auxinelor.

Dacă giberelinele se folosesc în concentrații prea mari, manifestă proprietăți inhibitoare asupra alungirii tulpinilor.

Asupra frunzelor manifestă o acțiune de deschidere a culorii, explicată prin scăderea conținutului în clorofilă.

Tratarea cu gibereline înlătură fenomenul de nanism, care apare la unele specii de plante.

Folosirea giberelinelor exogene determnă înflorirea timpurie, proces observat de Kurasawa (1962); apare alungirea organelor florare, formarea în timp mai scurt a florilor, creşterea lor în greutate.

La plantele tratate cu gibereline se dezvoltă ovarul şi se transformă în fruct lipsit de seminţe; acest fenomen este cunoscut sub numele de *partenocarpie*. El a fost observat la tomate, dar se pot obţine rezultate bune şi la alte specii cum sunt strugurii, soiurile de meri şi peri etc.

Giberelinele intervin şi asupra proceselor metabolice specifice, cum sunt stimularea transformării triptofanului în triptamină şi formarea auxinelor. În acest sens acţionează şi asupra enzimelor, reducând activitatea auxinoxidazelor şi, deci, frânează degradarea oxidativă a auxinelor.

Giberelinele activează unele enzime (amilaze, proteoze, nucleaze) şi prin aceasta contribuie la transformarea metabolică a polizaharidelor şi proteinelor. Acestea, prin degradare, se transformă în produşi cu moleculă mică, necesari proceselor de creştere.

Tratând diferite plante cu acid giberelic, s-au reuşit sinteze *de novo* ale unor enzime.

Giberelina A_3 intensifică procesul fotosintezei prin stimularea fixării dioxidului de carbon, se implică şi în procesul fosforilării prin acumulare de grupări fosforice în cloroplaste.

Menţinând un anumit conţinut de proteine şi acizi nucleici, giberelinele întârzie îmbătrânirea plantelor. Intervin şi în biosinteze specifice, ca formarea vitaminei C, a alcaloizilor etc.

7.2.3. Citochinine

Generalităţi. În categoria citochininelor sunt incluse atât substanţe naturale ce se găsesc în regnul vegetal, cât şi unii compuşi organici sintetici, care sunt bioactivi în plante. Existenţa în plante a unor compuşi care au proprietatea de a stimula diviziunea celulară a fost bănuită de către J. Wiessner, încă din anul 1892.

Primul compus descoperit din seria citochininelor a fost 6-furfuriladenina sau chinetina, produs obţinut şi sintetic de către C. O. Miller şi colaboratorii (1955). Produsul sintetic obţinut a probat proprietăţi remarcabile privind diviziunea celulelor în unele plante.

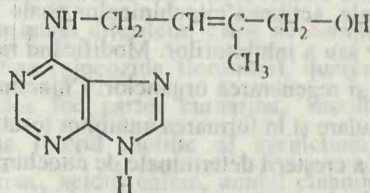
Prin cercetări ulterioare s-a dovedit prezenţa unor substanţe bioactive în porumb, cărora li s-a dat numele de zeatine (D. S. Letham, 1963).

Pentru aceşti produşi biologic-activi s-au propus mai multe denumiri ca chinetine, citomine, fitochinine, citochinine; ultima denumire a căpătat o mai largă susţinere, fiind propusă de F. Skoog (1963).

Structura chimică a citochininelor. Cei mai mulţi compuşi din această categorie au nucleu de purină în componenţa moleculei.

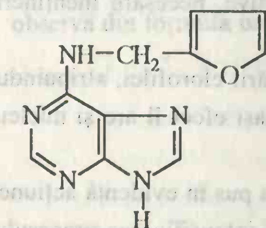
Stabilirea structurii chimice a citochininelor aparţine lui Letham, care a izolat din boabe nemature de porumb o substanţă cristalină, pe care a numit-o zeatină. Din 60 kg

boabe a obținut doar 0,7 mg substanță cristalizată (1963), căruia i s-a stabilit structura chimică, aceasta fiind 4-hidroxi-3-metilbutenil-adenină:

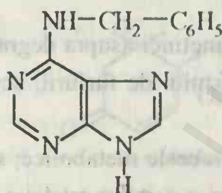


Stereochimic s-a stabilit că gruparea metil în poziția 3 se găsește orientată în poziția *trans* față de gruparea metilenică din poziția 4. Confirmarea acestei structuri a fost făcută prin obținerea sintetică a produsului de către G. Shaw și D. V. Wilson (1964).

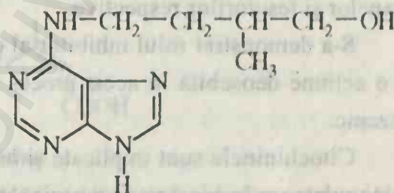
Pe cale de sinteză s-au obținut mai multe citochinine ca de exemplu oxipurine 6-substituite, furfuril-aminopurina etc., iar din hidrolizatele acidului ribonucleic provenit din mazăre și spanac s-a separat și identificat zeatina. În plante au fost detectați diferiți derivați ai zeatinei ca ribozilzeatina, ribozildihidrozeatina, dihidrozeatina etc.



Furfuriladenina (chinetina)



6-Benziloxipurina



Dihidrozeatina

Biosinteza citochininelor. Procesul de biosinteză a citochininelor are loc mai ales în rădăcini, de unde aceste substanțe trec prin țesuturile vasculare ale tulpinii spre alte părți ale plantei; ele pot fi sintetizate și în organele la a căror reglare a proceselor fiziologice vor contribui.

Se consideră că în organismul vegetal citochininele rezultă printr-un proces de degradare a acizilor nucleici. După unele păreri, formarea lor ar decurge printr-un mecanism asemănător cu cel care reflectă biosinteza sterolilor, plecând de la acetil-CoA.

Pentru biosinteza citochininelor este necesar acidul mevalonic, care se consideră a fi un precursor al catenei laterale, nucleul de purină rezultând din degradarea acizilor nucleici. Se înțelege că în cazul acestui proces de biosinteză intervin enzimele specifice care catalizează transformările până la produși bioactivi endogeni.

Citochininele biosintetizate se găsesc sub formă legată, inactivă, care prin hidroliză acidă trec în forma bioactivă, dependentă de prezența acizilor ribonucleici.

Rolul biologic al citochininelor. În forma lor activă, citochininele endogene sunt cuplate cu ARN de transfer.

Experimental, s-a dovedit că chinetina stimulează diviziunea celulară și procesul de creștere prin alungirea celulelor. Acțiunea de stimulare a creșterii se manifestă din perioada germinării până la maturizarea plantei.

Semințele care își pierd facultatea de a germina, datorită unei păstrări mai îndelungate, și-o recapătă prin tratare cu o soluție de 6-benzilaminopurină.

În organismele vegetale, acțiunea citochininelor poate fi sinergică sau antagonică cu a giberelinelor, auxinelor sau a inhibitorilor. Modificând raportul dintre citochinine și auxine are loc diferențierea și regenerarea organelor. Chinetina este deosebit de indicată în inducerea diferențierii celulare și în formarea anumitor țesuturi și organe ale plantelor.

Efectele de stimulare a creșterii determinate de citochinine au fost verificate pentru multe părți ale plantei, stabilindu-se că acestea sunt mai intense în prima etapă a creșterii decât în perioada de maturare, când apar inhibitorii lor.

Formarea tuberculilor la cartofi este deosebit de stimulată de către citochinine; acestea intervin și în procesul de diferențiere a mugurilor vegetativi, în modificarea raportului dintre florile mascule și cele femele. Determină apariția fenomenului de partenocarpie a fructelor, stimulează creșterea și maturarea lor.

La unele specii vegetale (varză, sfeclă, salată, ridichi, pătrunjel) s-a evidențiat acțiunea citochininelor de frânare a îmbătrânirii frunzelor, tulpinilor sau altor părți ale plantei; ele intervin în reglarea transportului substanțelor nutritive, necesare menținerii organelor și țesuturilor respective.

S-a demonstrat rolul inhibitor al chinetinei asupra degradării clorofilei, atribuindu-se o acțiune deosebită în acest proces restului de furfuril; același efect îl are și nucleul benzenic.

Citochininele sunt implicate și în procesele metabolice; s-a pus în evidență acțiunea lor stimulatoare în biosinteza proteinelor și a acizilor nucleici și intensificarea procesului de fotosinteză.

S-au dovedit utile aceste substanțe în creșterea rezistenței plantelor la temperaturi scăzute sau ridicate, la radiații γ, la infecții cu virusuri sau cu ciuperci. În exces de umiditate, citochininele previn îmbătrânirea plantelor și degradara clorofilei.

7.3. Substanțe inhibitoare

În plante există substanțe endogene care inhibă creșterea, intervenind în procesele metabolice și de biosinteză. Acțiunea acestora se întinde pe întreg organismul sau numai asupra unor organe ale plantelor.

Existența unor substanțe inhibitoare a procesului de încolțire a semințelor a fost bănuită încă de la sfârșitul secolului al XIX-lea, însă separarea acestor inhibitori a fost realizată mult mai târziu (1951) de către H. Linser.

Clasificarea compușilor endogeni în categoria inhibitorilor sau a stimulatorilor este dificilă deoarece un singur compus, în funcție de concentrația folosită, poate inhiba sau stimula creșterea plantelor.

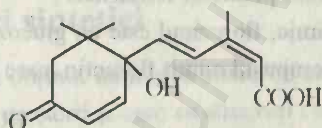
După structurile lor chimice, inhibitorii de creștere aparțin acizilor carboxilici, terpenelor, cumarinelor, fenolilor, alcaloizilor etc., fiind produși naturali și sintetici.

7.3.1. Inhibitori naturali

Se cunoaște un număr mare de substanțe, izolate din plante, care alcătuiesc grupa inhibitorilor naturali, aparținând diferitelor clase de compuși organici. Astfel, din clasa fenolilor fac parte: florizina (glucozida floretinei), quercitina, epicatechina, juglona și alții. Din grupa lactonelor fac parte: cumarina, aesculina (glucozida aesculetinei), umbeliferona, scopoletina (eterul metilic al esculetinei), iar din seria acizilor se menționează: acidul abscisic, acidul cafeic, acidul cinamic, acidul clorogenic etc. Toți acești compuși organici au structuri chimice bine cunoscute. Cei mai importanți se vor prezenta, succint, în continuare.

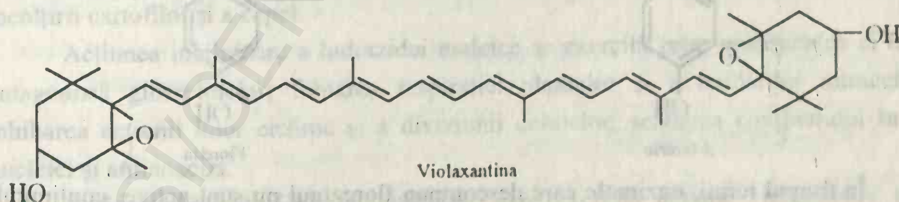
Acidul abscisic. Este considerat cel mai important inhibitor natural. A fost izolat din mugurii de paltin (P.F. Wareing 1964) dându-i-se numele de dormin. În același an, a fost izolat și de F. T. Addicott, numindu-l abscisin II. J. W. Cornforth și colaboratorii (1965) au arătat că acești produși sunt identici, dându-le numele de acid abscisic (ABA). A fost izolat și din bumbac, iar apoi identificat în multe specii vegetale.

S-a constatat că este apropiat ca structură chimică de vitamina A, așa cum se poate observa din formula următoare:

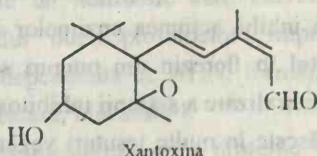


Acidul abscisic

Structura chimică a acidului abscisic include trei resturi de izopren, ceea ce duce la părerea că s-ar putea forma pe cale biochimică din astfel de compuși. După Milborrow (1975) ar putea rezulta din acid mevalonic. Mai probabailă este formarea acidului abscisic din xantofile; în acest sens este de luat în considerație violaxantina, care prin fotooxidare dă naștere unui nou inhibitor de creștere numit *xantoxina*, din a cărui structură se deduce în mod lesne apariția acidului abscisic.



Violaxantina



Xantoxina

Biosinteza acidului abscisic are loc în frunze, tulpini, fructe semințe (mai ales în stadiul de germinare). De la locul de formare, compusul migrează spre alte părți ale plantei. Se consideră că ABA există în toate speciile vegetale.

Este un antagonist al stimulatorilor de creştere (acid indolilacetic, gibereline, citichinine). Inhibă germinarea seminţelor prin blocarea activităţii unor enzime hidrolitice. Este implicat în biosinteza acizilor nucleici, inhibând acţiuna ribonucleazelor şi încorporarea aminoacizilor pentru formarea proteinelor specifice.

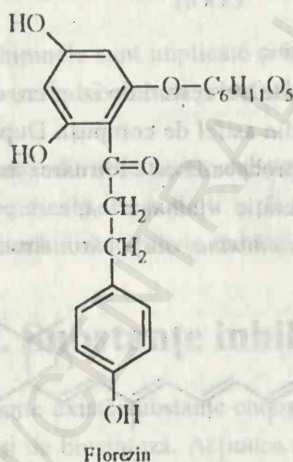
Acidul abscisic intervine în reglarea stării de repaus a mugurilor, el existând în aceşti muguri latenţi până în a doua jumătate a iernii, când datorită condiţiilor are loc descómpunerea sa şi apar stimulatorii de creştere.

ABA are rol important în menţinerea stării de repaus şi inhibă germinarea prematură a seminţelor, împiedicând acţiuna hidrolitică a amilazei asupra amidonului din seminţe. Dacă seminţele sunt umectate cu soluţii de ABA, ele nu germinează până când acest inhibitor nu este îndepărtat.

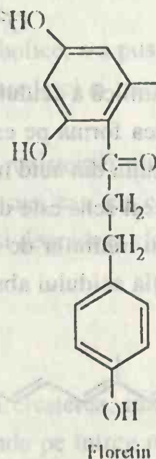
ABA este implicat în procesul căderii frunzelor şi fructelor; măreşte rezistenţa plantelor la secetă şi la ger. Este de subliniat şi faptul că acest produs inhibă creşterea unor organe şi ţesuturi, accelerează îmbătrânirea ţesuturilor din frunze şi tuberculi, inhibă coacerea fructelor şi previne încolţirea seminţelor în fruct.

Florizinul. Este un inhibitor din grupa flavonoizilor descoperit de L .P. Sarapuu (1965). Se sintetizează în frunzele plantelor lemnoase.

Din punct de vedere chimic, florezinul este un glucozid, care se poate descómpune pe cale enzimatică eliberând compusul numit florentin, care este agliconul.



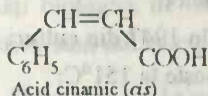
Florezin



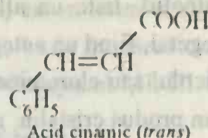
Floretin

În timpul iernii, enzimele care descompun florezinul nu sunt active, conţinutul în florezin se menţine ridicat şi inhibă acţiunea enzimelor implicate în procesul creşterii. Spre sfârşitul iernii, conţinutul în florezin din muguri scade (hidrolizându-se) şi apar stimulatori de creştere şi de neutralizare a acţiunii inhibitoare a florezinului.

Acidul cinamic. Se găseşte în multe ţesuturi vegetale, unde sub forma *trans* este un precursor al indolului.



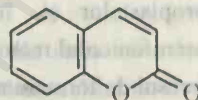
Acid cinamic (*cis*)



Acid cinamic (*trans*)

Forma *trans* a acidului cinamic este un antagonist al acidului indolil-3-acetic, iar izomerul său *cis* are acțiune sinergică cu heteroauxina.

Cumarina. Este lactona acidului *orto*-hidroxi-cinamic și se găsește în multe specii vegetale. Apare în frunze, fructe, semințe, mai ales sub formă de glucozid. Cumarina este un corp cristalin ce se topește la 70°C și fierbe la 290°C. Are miros plăcut de fân proaspăt cosit și de alte plante.



Cumarina

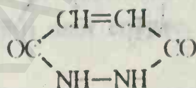
Cumarina este un inhibitor al încolțirii semințelor, având efecte similare cu acidul abscisic, dar la concentrații mult mai mari.

Se cunosc mulți inhibitori naturali, în special din categoria fenolilor (clorofenoli, nitrofenoli, acid galic, acid salicilic), dar și din alte clase de substanțe care exercită acțiuni de frânare a germinației, înmuguririi și inhibării plantelor tinere.

7.3.2. Inhibitori sintetici

Pe cale de sinteză s-a obținut un număr mare de compuși organici, care manifestă acțiuni biologice de oprire a creșterii și care au structuri chimice foarte diferite.

Hidrazida maleică. Este o substanță organică cu structură simplă, care manifestă o puternică acțiune de frânare a creșterii vegetalelor:



Hidrazida acidului maleic

Această substanță este folosită pentru încetinirea creșterii lăstarilor, oprirea încolțirii cartofilor și a cepei.

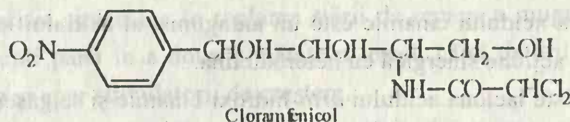
Acțiunea inhibitoare a hidrazidei maleice se exercită prin: proprietatea ei de a fi antagonistă giberelinelor; frânarea respirației plantelor și a oxidărilor intracelulare; inhibarea acțiunii unor enzime și a diviziunii celulelor; scăderea conținutului în acizi nucleici și aminoacizi.

Actinomicina D. Este un antibiotic care exercită acțiuni inhibitoare asupra creșterii și a metabolismului nucleoproteidelor. Împiedică sinteza ARN-ului prin inhibarea ARN-polimerazei dependentă de ADN, formând legături de hidrogen cu unii aminoacizi din constituția acestuia, blocându-l.

Actinomicina D inhibă biosinteza unor proteine specifice, împiedică extinderea membranei celulare și scade extensibilitatea plasmei. Acest antibiotic împiedică fotosinteza prin inhibarea acțiunii enzimelor implicate în acest proces; frânează sinteza unor aminoacizi și a zaharurilor din componența membranelor.

Cloramfenicolul. Este un alt antibiotic cu puternice proprietăţi inhibitoare ale metabolismului vegetal, fiind un antagonist al giberelinelor.

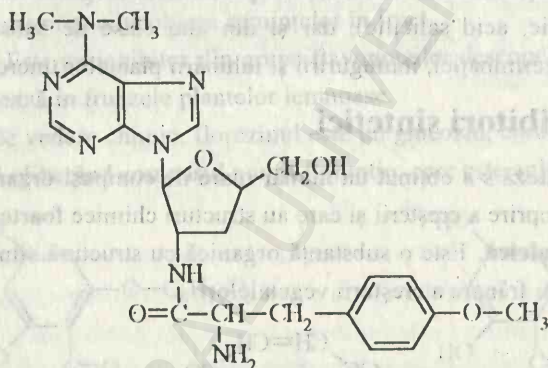
Cloramfenicolul sau cloromicetina a fost izolat în 1947 din culturi de *Streptomices venezuelae*. Este un produs cristalin, gălbui, care se topeşte la 151°C:



Cloramfenicol

Acţiunea sa se manifestă prin blocarea sintezei proteinelor participante la structura cloroplastelor şi, în final, procesul de fotosinteză este perturbat. Concomitent, cloramfenicolul manifestă acţiuni inhibitoare asupra activităţii unor enzime ce catalizează procesul de formare a clorofilei şi care sunt implicate şi în procesul de fotosinteză.

Puromicina. Este un nucleozid cu proprietăţi bactericide de natură purinică, care este produsă de fungi. Are următoarea structură chimică:



Manifestă proprietăţi inhibitoare asupra activităţii unor enzime implicate în formarea antocianilor, încât sinteza acestora nu mai are loc în plante.

7.4. Substanţe retardante

7.4.1. Generalităţi

Substanţele retardante constituie un grup de compuşi organici cu diferite structuri chimice, care au proprietatea de a reduce diviziunea şi elongaţia celulelor din tulpini şi lăstari în creştere. Aceşti compuşi nu inhibă procesele metabolice, încât planta să nu se poată dezvolta ci, din contră, contribuie la reglarea înălţimii plantei şi a lungimii ramificaţiilor.

Pe cale sintetică s-a obţinut un număr foarte mare de compuşi care manifestă retardarea creşterii vegetalelor.

Descoperirea lor a revenit cercetătorului J. W. Mitchell (1949), care a observat că unele substanţe reduc procesul de elongaţie a tulpinii de fasole. Mai activă în acest sens s-a dovedit a fi clorura de 2,4-diclorbenzil-nicotinium (2,4-DNC).

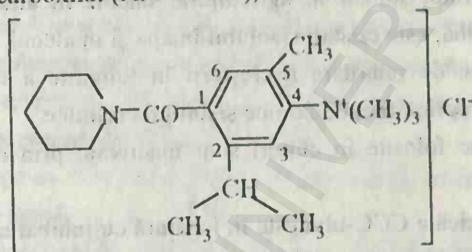
Treptat s-au sintetizat noi compuși organici, cu structuri mai complexe, care au probat proprietăți biologice de retardare a creșterii, încât numărul trece de 150. Aceste substanțe bioactive sunt indicate prin denumirile de Compusul I,II, III....etc.

7.4.2. Reprezentanți mai importanți

Compusul I. Cuprinde șase compuși sintetici din clasa nicotinium. Dintre aceștia cel mai activ este clorura de 2,4-diclor-benzilnicotinium (2,4-DNC).

Acești produși au proprietatea de a diminua alungirea tulpinilor de fasole, fără a deregla procesul normal de dezvoltare a celorlalte părți ale plantei. 2,4-DNC determină diminuarea greutății tulpinilor și sporirea greutății frunzelor.

Compusul II. Cuprinde un număr mai mare de substanțe din seria sărurilor de amoniu, având ca reprezentant principal clorura de 2-izopropil-4-trimetil-amonium-5-metilfenil-1-piperidin-carboxilat (AMO-1618), care are structura următoare:



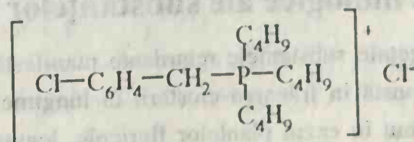
Acest produs este solubil în apă, puțin higroscopic și foarte eficace pentru unele specii (fasole, castraveți, crizanteme); are și proprietăți bactericide.

Proprietățile retardante ale produsului AMO-1618 se manifestă prin inhibarea sintezei giberelinelor și a activității unor enzime. Acest produs este cunoscut din anul 1950.

Compusul III. Este cunoscut din anul 1959, fiind obținut de H. M. Cathey prin izomerizarea produsului AMO-1618. Izomerizarea are loc numai la restul de terpenă, iar produsul ce rezultă este cunoscut sub numele de carvadan. Experimental s-a dovedit activ pentru fasole și crizanteme.

Compusul IV. Este cunoscut din anul 1955 sub numele de BOH. Din punct de vedere chimic este β-hidroxietil-hidrazină. Manifestă acțiuni de reducere a creșterii tulpinilor de castraveți, tomate, fasole dar stimulează procesele de înflorire.

Compusul V. Este cunsocut sub numele de fosfon-D, iar din punct de vedere chimic este clorura de 2,4-diclorbenzil-tributilfosfonium, cu următoarea structură chimică:



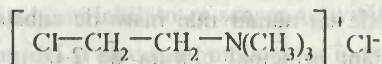
Produsul manifestă acțiune de retardare a creșterii la mai multe plante floricole. Această acțiune se manifestă prin oprirea sintezei giberelinelor.

Folosit în concentrație mai mare devine toxic pentru plantă. Are și proprietăți bactericide.

Compusul VI. Este cunsocut sub numele de fosfon-S și este un analog structural al fosfonului-D. În molecula produsului se află azot în loc de fosfor; este deci o clorură de amoniu.

Activitatea biologică constă în retardarea creșterii tulpinilor unor specii vegetale ca: fasole, crin, crizantemă și altele.

Compusul VII. Are mai multe denumiri uzuale, mai frecvent fiind folosită abrevierea denumirii chimice de clorură de clorcolină (CCC), sau clorură de (2-cloretil)-trimetilamonium:



$$\left[Cl-CH_2-CH_2-N(CH_3)_3 \right]^+ Cl^-$$

Este un produs mult folosit în agricultură, uneori în amestec cu îngrășăminte chimice. Are culoarea albă, este cristalin, solubil în apă și în alcool.

Manifestă acțiune de retardare a creșterii în lungime a tulpinilor și lăstarilor, acțiune explicată prin proprietăți antiauxinice și antigiberelinice.

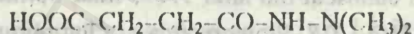
Auxinele exogene folosite în culturi sunt inactivate prin descompunerea lor de către CCC.

Acțiuna antiauxinică a CCC-ului este în legătură cu inhibarea acțiunii unor enzime implicate în sinteza auxinelor.

După pătrundere în plantă, apare o descompunere treptată, rezultând produși biologic inactivi.

CCC-ul administrat animalelor manifestă acțiuni toxice.

Compusul VIII. A fost sintetizat de G. Dahlgren și L. N. Simmergan (1963), fiind 2,2-dimetilhidrazida acidului succinic:



$$HOOC-CH_2-CH_2-CO-NH-N(CH_3)_2$$

Este cunsocut și sub numele de Alar,, B_9, SADH etc.

Prezintă activitate biologică pentru unele specii vegetale. Întârzie procesul de înflorire a pomilor. Folosit în perioada de formare și coacere a fructelor, întârzie căderea lor.

În practica agricolă se folosește sub formă de soluții de concentrații foarte variate.

Se cunosc și alți derivați de hidrazină, obținuți pe cale sintetică care manifestă acțiuni retardante.

7.4.3. Acțiuni biologice ale substanțelor retardante

În organismele vegetale substanțele retardante manifestă mai multe acțiuni. Cea mai importantă acțiune constă în frânarea creșterii în lungime a tulpinilor și lăstarilor. Astfel de efecte s-au obținut în cazul plantelor floricole, legumicole, pomilor fructiferi, viței de vie etc. Prin folosirea substanțelor retardante apare îngroșarea membranelor celulare, în special în cazul țesuturilor de susținere, supuse la solicitări mecanice. Trebuie subliniată acțiunea acestor substanțe asupra procesului de înflorire. Pe cale experimentală

s-a pus în evidență acțiunea privind transformarea mugurilor vegetativi în muguri florali. S-a constatat că substanțele retardante sunt implicate în procesul de fecundare și legare a fructelor.

Prin folosirea acestor compuși bioactivi pentru tratarea pomilor, apare creșterea producției de fructe datorită împiedicării căderii lor în perioada de dezvoltare. CCC și Alarul întârzie maturarea fructelor cu câteva zile. Apare și un proces de intensificare a colorării fructelor, concomitent cu ameliorarea calității lor (măr, cireș, piersic, tomate, viță de vie).

Folosirea unor substanțe ca fosfon-D, CCC, Alar determină retardarea degradării clorofilei și substanțelor carotenoidice din frunze; menține prospețimea țesuturilor din frunze.

Substanțele retardante determină scăderea rapidă a conținutului de proteine solubile din frunze. Sunt implicate și în procesele de biosinteză a unor compuși bioactivi. Astfel, CCC stimulează procesul de biosinteză în plante a vitaminei C și a vitaminei E. Este influențat și metabolismul fosforului, calciului, magneziului, azotului etc.

Tratarea cu retardanți determină creșterea rezistenței plantelor la temperaturi scăzute, prin reglarea conținutului hidric în celule.

Unele substanțe ca CCC-ul și clorura ce clorcolină, determină creșterea rezistenței plantelor la secetă și arșiță.

Retardanții contribuie la creșterea rezistenței plantelor față de o salinitate ridicată a solului.

Unii retardanți s-au dovedit activi privind creșterea rezistenței plantelor la boli și la dăunători. Rezultate importante s-au observat în cazul folosirii CCC-ului și clorurii de clorcolină.

BIBLIOGRAFIE

1. Ababi, L., Trandafirescu, M. *Biochimie*. Partea I, IMF Iaşi, 1974.
2. Abraham, A.D. *Mecanismul de acţiune al hormonilor steroizi*. Bucureşti, Editura Academiei, 1975.
3. * * * *Aspecte normale şi patologice ale reglării neuroendocrine*. Simpozion Naţional. IMM Iaşi, 1985.
4. Avram, M. *Antidăunători*. Bucureşti, Editura Academiei, 1974.
5. * * * *Advances in Immunology* vol. 44. Academic Press 1989.
6. Bedeleanu, D.D., Manta, I. *Biochimie medicală şi farmaceutică*. Cluj-Napoca, Editura Dacia, 1985.
7. Berezovskii, V.M. *Himia Vitaminov*. Ediţia II-a, 1973.
8. Bernard, K. *Zur Biosynthese von vitamin B_{12} bei propionbacterium shermanii*. Augsburg, 1984.
9. Bodea, C. *Tratat de biochimie vegetală* vol. I. Bucureşti, Editura Academiei, 1964.
10. Bodea, C. *Tratat de biochimie vegetală* vol II. Bucureşti, Editura Academiei, 1965.
11. Bouzher, Y. *Rechereches dans le domaine des polymeres bioactifs*. These de doctorat Yassy, 1981.
12. Busucioc, A. *Curs de biochimie* vol. I. IMF Iaşi, 1978.
13. Căpâlna, S., Tănăsescu D., Truţia, E. *Biochinie Medicală*. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1977.
14. Chiriac, I. *Vitaminele şi sănătatea copilului*. Bucureşti, Editura medicală, 1984.
15. Comăniţă, E., Şoldea, C., Dumitrescu, E. *Chimia şi Tehnologia Pesticidelor*. Bucureşti, Editura Tehnică, 1986.
16. Ciucu, A. *Sensori electrochimici bazaţi pe reacţii enzimatice, necesari controlului în procese biochimice industriale*. Teză de doctorat, Bucureşti, 1986.
17. Ciorănescu, E. *Medicamente de sinteză*.Bucureşti, Editura Tehnică, 1966.
18. Ciupe, H. *Sinteze de feromoni monoolefinici şi terpenoidici*. Rezumatul tezei de doctorat. Institutul de Chimie, Cluj-Napoca, 1984.
19. Ciupercescu-Matache. V. *Vitaminele în industria alimentară*. Bucureşti, Editura Tehnică, 1964.
20. Dumitru, I.F. *Biochimie*. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1980.
21. Dumitru, I.F., Iordănescu, D. *Enzime*. Bucureşti, Editura Medicală, 1974.

22. Dumitru, I.F., Iordănscu, D. *Introducere în Enzimologie*. Bucureşti, Editura Medicală, 1981.

23. * * * *Feromonî u povedenie*. Izdatelstvo nauka Moskva, 1982.

24. Gozariu, L. *Hormonii în biologia contemporană*. Cluj-Napoca, Editura Dacia, 1977.

25. Gozia, O. *Caracterizarea unor sisteme enzimatice native şi imobilizate implicate în obţinerea unor produşi biologic-activi cu aplicaţii practice*. Institutul Central de Biologie, Bucureşti, 1984.

26. Hanč, O., Pádr, Z. *Chemie und Biologie der Hormone*. Veb. Gustav Fisher Verlag Jena, 1979.

27. Hăulică, I. şi colaboratorii. *Fiziologie umană*. Bucureşti, Editura Medicală, 1989.

28. Hăulică, I., Brănişteanu, D., Petrescu, Gh. *Sistemul Renină Angiotensină. Hormoni locali*. Iaşi, Editura Junimea, 1983.

29. Hodkin, D. C. *The Crystal Structure of the Hexacarboxylic Acid Derived from Vitamin B_{12} and the Molecular Structure of the Vitamin*. Nature, 176, p.325, 1955.

30. Höllrige, V. *Untersuchungen zur Biosynthes des Vitamin B_{12} - Analogon 5-Hydroxybenzimid-azolycarbamid und das Coenzyms F_{420} dem Archaebakterium Methanosarcina barkeri*. Stuttgart, 1984.

31. Ifrim, S. *Curs de chimie biologică*. Universitatea Iaşi, 1968.

32. Ifrim, S. *Chimia lânii*. Bucureşti, Editura Tehnică, 1979.

33. Ifrim, S., Roşca, I. *Chimie Generală*. Bucureşti, Editura Tehnică, 1989.

34. * * * Interferon therapy. World Health Organization Technical Report Series 676. WHO-Geneva, 1982.

35. Ionescu, M. *Biochimie Agricolă*. Bucureşti, Editura Ceres, 1970.

36. Karlson, P. *Manual de Biochimie*, ediţia a V-a. Bucureşti, Editura Medicală, 1967.

37. Lehninger, A-L. *Biochimie* vol I. Bucureşti, Editura Tehnică, 1987.

38. Manta, I. şi colaboratorii. *Biochimie Medicală*. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1965.

39. Magnus, H.L.N. *Molecular Genetic Studies on Three Major Vitamin a Binding Proteins*, Upsala, 1987.

40. Milcu, St. şi colaboratorii. *Endocrinologie clinică*. Bucureşti, Editura Medicală, 1967.

41. Milcu, St., Lungu, Al. *Hormonii şi viaţa*. Bucureşti, Editura Ştiinţifică, 1965.

42. Milică, C.I., Stan, S., Toma, D. L. *Substanţe bioactive în horticultură*. Bucureşti, Editura Ceres, 1983.

43. Milică, C., Stan S. *Substanţe bioactive în cultura plantelor*. Bucureşti, Editura Agro-Silvică, 1968.

44. Moraru, I. *Imunologie*. Bucureşti, Editura Medicală, 1984.

45. Neamţu, G. *Biochimie Vegetală*. Bucureşti, Editura Ceres, 1981.

46. Neniţescu, C.D. *Chimie Organică*, vol II, ediţia VII-a. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1974.

47. Oeriu, S. *Biochimie Medicală*. Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1974.

48. Păuşescu, E., Popescu, M.V. *Prostaglandinele în biologie*. Bucureşti, Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, 1981.

49. Popescu, A., Cristea, E., Zamfirescu-Ghiorghiu, M. *Biochimie Medicală.* Bucureşti, Editura Medicală, 1980.

50. Popescu, P., Cîmpeanu, C. *Vitaminele în producţia animalelor.* Probleme de vitaminologie comparată. Bucureşti ,1966-p.35.51.

51. Randoin, L. Simonnet, H., Causeret, J. Ediţia a VI-a *Vitamins*- Paris-1964.

52. Raicu, P., Badea, M.E. Bucureşti, Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, 1986.

53. Rabega, M.m Rabega, C. *Vitamine, enzime şi hormoni.* Bucureşti, Editura Albatros, 1983.

54. Rosetti-Colţoiu, M., Oţeleanu, D. *Biocatalizatorii în practica medicală şi farmaceutică.* Bucureşti, Editura Medicală, 1980.

55. Papaport, S.M. Medizinische Biochimie, Berlin, 1962.

56. Rosetti-Colţoiu, M., Mitrea, N. *Biochimie.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1985.

57. Popescu A.L., Popescu N.A. *Secretele hormonilor.* Bucureşti, Editura Ceres, 1983.

58. Simionescu, Cr., Dumitriu, S. *Enzime.* Bucureşti, Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, 1980.

59. Simionescu, Cr., Gorduza, V. *Polimeri biocompatibili şi biologic-activi.* Bucureşti, Editura Academiei, 1980.

60. Schuster, D.C. *Antimetaboliţi şi analogi pteridinici ai acidului folic.* Institutul Politehnic Timişoara, 1980.

61. Şerban, Fl., Dumbravă, E., Pavel, M. *Biochimie Medicală.* IMF Iaşi, 1984.

62. Taşcă, I.S., Babeş I. *Chimia şi farmacologia Prostaglandinelor.* Bucureşti, Editura Academiei, 1983.

63. Tămaş, V. *Biochimie animală.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1975.

64. Tămaş, V., Şerban, M., Cotruţ, M. *Biochimie medicală veterinară.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1981.

65. Tănăsescu, Gh. *Biochimie Medicală*, partea a II-a, IM Timişoara, 1975.

66. Tămaş, V., Boitor, I. *Hormonii şi funcţiile lor biochimice.* Bucureşti, Editura Ceres, 1977.

67. Trufanov, A.V. *Biochimia vitaminov i antivitaminov*, ediţia a II-a, Moscova, 1972.

68. Vasiliu, V. *Rahitismul.* Bucureşti, Editura Medicală, 1964.

69. Zarnea, G. *Tratat de microbiologie generală.* Bucureşti, Editura Academiei, 1983.

70. Zarnea, G., Mencinicopschi Gh., Brăgărea, Şt. *Bioingineria preparatelor enzimatice microbiene.* Bucureşti, Editura Tehnică, 1980.

71. Zăbavă, I. *Rolul biologic al vitaminelor în creşterea animalelor.* Bucureşti, Editura Agrosilvică, 1969.

72. Zinca.S. *Biochimie animală.* Bucureşti, Editura Didactică şi Pedagogică, 1971.

73. Al VI-lea *Congrès latin de rhumatologie.* Masson-Paris-New York, Barcelone-Mila, 1980.

În lucrare se face o succintă prezentare a celor mai importante substanțe biologic active de natură endogenă.

Comparativ cu alte lucrări similare, care iau în considerare numai substanțele biologic active mai cunoscute (vitamine, enzime și hormoni), în lucrarea de față sunt prezentate aspecte și despre hormoni tisulari, interferoni, feromoni și fitohormoni.

Pe lângă aspectele de ordin general, în fiecare capitol se expun noțiuni de biosinteză a produșilor, structura chimică și rolul acestora în organism. Acolo unde este necesar, se fac sublinieri privind acțiunea biologică pentru fiecare compus separat, dar și în ansamblu, ca în cazul prostaglandinelor, interferonilor, feromonilor. De asemenea, se subliniază importanța vitaminelor, hormonilor și altor produși pentru sectoarele zootehnice.

Prin conținutul său cartea se adresează unui cerc larg de specialiști: biochimiști, medici, biologi, chimiști și ingineri chimiști, zootehniști, agronomi, ca și unor categorii de profesori din învățământul preuniversitar și studenților din specialitățile de mai sus.

ISBN 973-31-0947-9